



HAL
open science

Analyse critique des propositions de protocole européen de suivi des insectes pollinisateurs

Gaëlle Legras, Philippe Aubry, Pamela Amiard, Arzhvaël Jeusset

► **To cite this version:**

Gaëlle Legras, Philippe Aubry, Pamela Amiard, Arzhvaël Jeusset. Analyse critique des propositions de protocole européen de suivi des insectes pollinisateurs. PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD); OFB. 2025, pp.63. <hal-04929482v3>

HAL Id: hal-04929482

<https://hal.science/hal-04929482v3>

Submitted on 22 Feb 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License



Analyse critique des propositions de protocole européen de suivi des insectes pollinisateurs

Critical analysis of proposals for a European protocol for monitoring pollinating insects

Février 2025



Gaëlle Legras¹, Philippe Aubry², Pamela Amiard¹ & Arzhvaël Jéusset^{1, 3}

¹ PatriNat (OFB, MNHN), 75005 Paris, France

² OFB - Direction surveillance, évaluation, données - Unité données et appui méthodologique, 78612 Le Perray-en-Yvelines, France

³ Adresse de courriel de l'auteur correspondant : arzhvael.jeusset@mnhn.fr

PATRINAT

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel

Un service commun
de l'Office français de la biodiversité,
du Muséum national d'Histoire naturelle,
du Centre national de la recherche scientifique
et de l'Institut pour la recherche et le développement



Nom du projet : *European Union Pollinator Monitoring Scheme (EU PoMS)*

Convention et financeur : Convention n° 2201375916 relative à l'attribution d'un appui financier pour la mise en œuvre de plusieurs actions du Plan national en faveur des insectes pollinisateurs et de la pollinisation 2021-2026, en ce qui concerne l'amélioration des connaissances scientifiques (axe 1 du plan national) entre le Muséum national d'Histoire naturelle (maître d'œuvre) et le ministère de la Transition écologique et de la cohésion des territoires (maître d'ouvrage et financeur)

Responsable de l'étude : Arzhvaël Jeusset

Chef de l'équipe en charge du programme : Stanislas Wroza

Relecteurs, contributeurs et experts mobilisés : Benoît Fontaine, Colin Fontaine, Xavier Houard, Antoine Lévêque, Grégoire Lois, Adrien Perrard, Emmanuelle Porcher, Quentin Rome, Rodolphe Rougerie, Stanislas Wroza

Remerciements : Les auteurs remercient tous les contributeurs du projet-pilote Spring, notamment ceux de Réserves naturelles de France et des Conservatoires d'espaces naturels. Ils remercient également les experts ayant participé aux premières réflexions concernant la déclinaison française du EU PoMS, notamment ceux de l'Observatoire des abeilles, de l'Opie, d'Arthropologia, d'Oreina et du groupement de recherche Pollinéco. Ces différentes personnes ont pu contribuer indirectement à ce rapport par leurs retours d'expérience et leurs avis. Les auteurs remercient enfin les agents du Ministère de la Transition écologique, de la Biodiversité, de la Forêt, de la Mer et de la Pêche pour avoir permis ces échanges, notamment dans le cadre du Plan pollinisateurs.

Référence du rapport conseillée : Legras G., Aubry P., Amiard P. & Jeusset A., 2025. *Analyse critique des propositions de protocole européen de suivi des insectes pollinisateurs*. Rapport PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD) & OFB, Paris. 49 p. + annexes. <<https://hal.science/hal-04929482>>

Photographie en première de couverture : Anthophore plumeuse, *Anthophora plumipes* (Pallas, 1772), femelle © Marion Plancher & Arzhvaël Jeusset

PatriNat

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel



Dans une unité scientifique associant des ingénieurs, des experts et des spécialistes de la donnée, PatriNat rapproche les compétences et les moyens de ses quatre tutelles que sont l'OFB, le MNHN, le CNRS et l'IRD.

PatriNat coordonne des programmes nationaux d'acquisition de connaissance pour cartographier les écosystèmes, les espèces et les aires protégées, surveiller les tendances de la biodiversité terrestre et marine, répertorier les zones clefs pour la conservation de la nature (Znieff), et produire des référentiels scientifiques et techniques (TaxRef, HabRef, etc.). Ces programmes associent de nombreux partenaires et fédèrent les citoyens à travers des observatoires de sciences participatives (tels que Vigie-Nature, INPN espèces ou Vigie-terre).

PatriNat développe des systèmes d'information permettant de standardiser, partager, découvrir, synthétiser et archiver les données aussi bien pour les politiques publiques (SIB, SINP) que pour la recherche (PNDB) en assurant le lien avec les systèmes internationaux (GBIF, CDDA, etc.)

PatriNat apporte son expertise dans l'interprétation des données pour accompagner les acteurs et aider les décideurs à orienter leurs politiques : production d'indicateurs, notamment pour l'[Observatoire national de la biodiversité](#) (ONB) et des livrets de chiffres clés, élaboration des Listes rouges des espèces et écosystèmes menacés, revues systématiques, préparation des rapports pour les directives européennes, élaboration d'outils de diagnostic de la biodiversité pour les acteurs des territoires, ou encore évaluation de l'efficacité des mesures de restauration. PatriNat organise également l'autorité scientifique CITES pour la France.

L'ensemble des informations (de la donnée brute à la donnée de synthèse) est rendu publique dans les portails NatureFrance, INPN et Compteur BIOM.

En savoir plus : www.patrinat.fr

Direction : Laurent PONCET et Julien TOUROULT

Naturefrance

Le service public d'information sur la biodiversité



Naturefrance représente le service public d'information sur les politiques publiques de biodiversité en France. Il se décline dans plusieurs portails d'information, dont le portail général naturefrance.fr. Destiné à un public aussi large que possible, il propose des clés de lecture des grands enjeux liés à la biodiversité et à son évolution, aux pressions qu'elle subit, et aux réponses de la société. Naturefrance présente des chiffres clés, des indicateurs développés dans le cadre de l'ONB (Observatoire national de la biodiversité), des articles et des publications, issus de l'analyse scientifique des données provenant des politiques publiques de conservation ou d'activités socio-économiques favorables ou défavorables à la biodiversité.

Dans le cadre de cette mission confiée par l'OFB, PatriNat gère ce portail et participe au traitement, à l'analyse et à l'interprétation d'une partie des données versées sur Naturefrance : par exemple, celles provenant du Système d'information de l'inventaire du patrimoine naturel (SINP) ou encore du Système d'information de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (SI CITES).

En savoir plus : naturefrance.fr

Inventaire national du patrimoine naturel

Le portail de la biodiversité et de la géodiversité françaises, de métropole et d'outre-mer



Dans le cadre de Naturefrance, l'Inventaire national du patrimoine naturel (INPN) est le portail de la biodiversité et de la géodiversité françaises, de métropole et d'outre-mer (www.inpn.fr). Il regroupe et diffuse les informations sur l'état et les tendances du patrimoine naturel français terrestre et marin (espèces animales, végétales, fongiques et microbiennes actuelles et anciennes, habitats naturels, espaces protégés et géologie) en France métropolitaine et ultramarine.

Les données proviennent du Système d'information de l'inventaire du patrimoine naturel (SINP) et de l'ensemble des réseaux associés. PatriNat organise au niveau national la gestion, la validation, la centralisation et la diffusion de ces informations. L'inventaire consolidé qui en résulte est l'aboutissement d'un travail associant scientifiques, collectivités territoriales, naturalistes et associations de protection de la nature, en vue d'établir une synthèse régulièrement mise à jour du patrimoine naturel en France.

L'INPN est un dispositif de référence français pour la connaissance naturaliste, l'expertise, la recherche en macroécologie et l'élaboration de stratégies de conservation efficaces du patrimoine naturel. L'ensemble de ces informations sont mises à la disposition de tous, professionnels, amateurs et citoyens.

En savoir plus : www.inpn.fr

Compteur Biodiversité Outre-mer

Le portail des indicateurs, des enjeux et des initiatives sur la biodiversité en outre-mer



Dans le cadre de Naturefrance, le Compteur de la biodiversité Outre-mer (BIOM) développe une entrée dédiée aux territoires ultramarins français qui abritent une part importante de la biodiversité mondiale. Portail accessible, actualisé et pérenne, il favorise la rencontre des citoyens et des acteurs de la biodiversité, autour de trois objectifs : partager la connaissance scientifique, valoriser les actions des territoires ultramarins, et encourager chacun à agir. Cette démarche vise à relater les contextes culturels et mettre en avant des enjeux spécifiques de chaque territoire, pour répondre à un engagement du Livre bleu des Outre-mer.

Des études auprès des citoyens viennent compléter l'initiative : par exemple le premier panorama des programmes de sciences participatives dans les territoires, et une enquête sur la perception de la nature et l'utilisation des outils numériques.

PatriNat assure la mise en œuvre du projet et avec la participation des acteurs des outre-mer, suivant trois axes : production d'indicateurs de biodiversité (connaissances, espèces menacées, espaces protégés, etc.), relai des actions de mobilisation et de sciences participatives (écogestes, inventaires participatifs, etc.) et gestion technique du portail

En savoir plus : biodiversite-outre-mer.fr

TABLE DES MATIÈRES

1. Introduction	8
2. Méthodes de collecte	9
2.1. Sciences participatives.....	9
2.1.1. Programme SPIPOLL.....	9
2.1.2. Autres programmes de sciences participatives	13
2.2. Transects pédestres	13
2.2.1. Identification sans capture ou avec capture au filet à papillon puis relâché.....	14
2.2.2. Identification avec capture au filet à papillon puis prélèvement des individus....	17
2.3. Coupelles colorées	20
2.4. Pièges Malaise.....	22
2.4.1. Tri et identification individuelle des spécimens.....	24
2.4.1.1. Identification manuelle	24
2.4.1.2. Identification par <i>barcoding</i>	25
2.4.2. Identification par <i>metabarcoding</i> des spécimens	26
2.5. ADN environnemental de fleurs et <i>metabarcoding</i>	27
2.6. Seaux à LED à papillons de nuit.....	28
2.7. Autres méthodes.....	31
3. Stratégie d'échantillonnage	31
3.1. Choix des sites	31
3.2. Conditions d'échantillonnage.....	35

4. Discussion et conclusion	35
5. Références bibliographiques.....	44
6. Annexes	49
6.1. Annexe 1 : Liste des abréviations	49
6.2. Annexe 2 : Glossaire	51
6.3. Annexe 3 : Description des méthodes de collecte.....	53
6.4. Annexe 4 : Estimations de coûts annuels de mise en œuvre des différentes méthodes de suivi.....	58
6.5. Annexe 5 : Proposition d'une démarche statistique possible pour dimensionner un dispositif de suivi des pollinisateurs	60

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Encadré 1 : Comparaison des protocoles SPIPOLL et <i>FIT Counts</i>	12
Encadré 2 : Programmes eBMS/STERF.....	16
Encadré 3 : Méthodes d'identification des insectes post-capture.....	17
Encadré 4 : Utilisation de l'intelligence artificielle.....	30
Encadré 5 : L'implication des bénévoles, un facteur à ne pas négliger.....	34
Figure 1 : Préparation d'échantillons d'invertébrés en vue d'un <i>barcoding</i>	24
Figure 2 : Arbre décisionnel se basant sur les principaux protocoles et méthodes utilisés pour le suivi des communautés d'insectes pollinisateurs et pouvant être intégrés à l'EU PoMS.....	37
Tableau 1 : Caractéristiques des principaux protocoles et méthodes utilisés pour le suivi des insectes pollinisateurs.....	41

1. INTRODUCTION

Le projet de loi européenne sur la restauration de la nature prévoit dans son article 8 l'obligation d'inverser le déclin des pollinisateurs d'ici à 2030 et de parvenir à des niveaux satisfaisants de populations de pollinisateurs. Cette obligation est assortie d'une méthode de surveillance fondée sur un protocole standardisé développé à l'échelle européenne, le « European Union Pollinator Monitoring Scheme » (EU PoMS). Ce protocole a comme objectif de pouvoir apprécier l'abondance et la diversité des espèces d'insectes pollinisateurs au sein de chaque État Membre et de mesurer les tendances d'évolution de leurs populations jusqu'à l'horizon 2050. De plus, les indicateurs mesurés à partir de ce protocole doivent permettre d'évaluer la réussite des mesures de restauration mises en place dans le cadre du règlement relatif à la restauration de la nature. Dans cet objectif, le programme STING (*Science and Technology for Pollinating Insects*) a été mis en place en 2019 et a abouti à une première proposition de protocole EU PoMS (Potts *et al.* 2021). À la suite de cette proposition, le projet pilote SPRING (*Strengthening pollinator recovery through indicators and monitoring*) a été lancé dans lequel 27 États membres actuels ont testé divers protocoles et dont les premiers résultats ont été rendus en octobre 2023 (European Commission 2024). En parallèle, la Commission européenne a lancé en novembre 2022 le projet STING 2, qui a abouti à une deuxième proposition de protocole EU PoMS prenant en compte les critiques ayant été formulées quant à la première version (Potts *et al.* 2024). À l'échelle française, ce protocole s'inscrit dans la lignée du Plan pollinisateurs (Plan national en faveur des insectes pollinisateurs et de la pollinisation ; Ministère de la transition écologique & Ministère de l'agriculture et de l'alimentation 2021), qui vise notamment à améliorer les connaissances sur les insectes pollinisateurs et le suivi de leurs populations sur la période courant de 2021 à 2026.

À la suite de ces différentes actions, les réflexions sur le protocole EU PoMS à retenir *in fine* se poursuivent, avant son adoption par la Commission européenne prévue théoriquement pour la mi-2025 et sa mise en œuvre effective à partir de 2026. Une fois mis en œuvre, des rapportages réguliers devront être réalisés par chaque État membre auprès de la Commission européenne.

Le présent rapport formule une analyse critique de la première version du protocole EU PoMS, même si cette analyse s'applique en partie également à la deuxième version, publiée pendant la rédaction du présent document. Dans une première partie, les avantages et les inconvénients des différentes méthodes de collecte de données d'insectes pollinisateurs seront présentées et une proposition des méthodes à retenir sera formulée. Une discussion sur le plan d'échantillonnage sera menée dans un second temps. Enfin, une conclusion reprendra de manière synthétique ces deux parties et apportera des éléments nécessaires à la bonne mise en place d'un protocole d'une telle envergure à l'échelle européenne.

2. METHODES DE COLLECTE

2.1. Sciences participatives

2.1.1. Programme SPIPOLL

Au sein du programme SPIPOLL (Suivi Photographique des Insectes POLLinisateurs ; MNHN & Opie 2024), depuis 2010, plus de 700 000 interactions plantes-insectes ont été observées par 4 129 observateurs, ce qui représente un effort d'échantillonnage de 25 908 heures (Colin Fontaine, communication personnelle, 22 avril 2024). En plus d'être l'un des rares à cataloguer les interactions plantes-insectes, ce programme a l'avantage d'être relativement peu coûteux (environ 80 000 €/ an actuellement, Grégoire Lois, communication personnelle, 2 juillet 2024), relativement facile à mettre en œuvre (protocole de 20 minutes et peu de matériel requis ; Annexe 3) et il permet une importante couverture taxonomique (couverture de certains groupes

peu couverts par les autres méthodes comme notamment les coléoptères floricoles). De plus, SPIPOLL est un protocole non létal pour les insectes. Ce point, valable pour l'ensemble des techniques non-létales présentées ci-après, est important à prendre en compte notamment dans un contexte où les mêmes considérations éthiques pour les invertébrés que pour les vertébrés concernant les méthodes de collecte émergent au sein de la communauté scientifique et du grand public (Drinkwater *et al.* 2019 ; Fischer & Larson 2019). Aussi, le programme SPIPOLL permet un apprentissage avec une augmentation des compétences naturalistes, ce qui lui vaut d'être populaire auprès des bénévoles du grand public. Par ailleurs, les photos prises par les participants étant validées par un système participatif ayant fait ses preuves (Deguines *et al.* 2018), le biais observateur se trouve réduit, les données qui en ressortent peuvent donc être considérées comme fiables et il est possible de revenir sur les identifications a posteriori. Grâce à ce système effectif de validation participative (identification validée en quelques jours seulement ; Colin Fontaine, communication personnelle, 22 avril 2024), ce type de programme offre également la possibilité de pouvoir facilement augmenter le nombre de suivis au fur et à mesure des années.

Cependant, le niveau d'identification taxonomique des espèces par ce protocole étant variable (c'est-à-dire allant de l'espèce chez la plupart des lépidoptères jusqu'au morphogroupe pour la majorité des hyménoptères), les tendances de populations obtenues par cette méthode pourront, dans certains cas, occulter certains changements (par exemple diminution / disparition d'espèces spécialistes au profit d'espèces généralistes appartenant au même morphogroupe). Ce point est à garder à l'esprit, notamment car l'un des objectifs de l'EU PoMS est d'estimer les tendances des populations de pollinisateurs en fonction des mesures de restauration mises en place dans chaque État membre. De plus, le lieu et la date de l'échantillonnage étant défini par les participants, il en résulte une non-homogénéité dans le temps et l'espace des données obtenues, avec notamment une sur-représentation des milieux

semi-naturels et urbains par rapport au milieu agricole (Desaegher *et al.* 2023). Par ailleurs, les participants étant libres de choisir par eux-mêmes l'espèce de plante sur laquelle ils vont réaliser le suivi, il peut en découler une représentativité biaisée de la communauté d'insectes liée au biais sur les plantes échantillonnées (Desaegher *et al.* 2023). Si ce protocole était retenu dans le cadre de l'EU PoMS, une stratégie d'échantillonnage plus standardisée devrait donc être mise en place (par exemple sélection aléatoire de plusieurs quadrats dans un site donné et application du protocole sur toutes les fleurs du quadrat en respectant un délai minimal d'attente entre chaque session pour éviter le biais lié au dérangement des insectes).

Les données obtenues dans le cadre du SPIPOLL peuvent, avec des méthodes statistiques appropriées, être utilisées pour étudier la réponse de la diversité et de la composition spécifiques en insectes pollinisateurs aux variables environnementales (Deguines *et al.* 2012). Par exemple, le protocole SPIPOLL a permis de mettre en évidence l'impact de l'urbanisation (Deguines *et al.*, 2012, 2016) et des jardins privés en ville (Levé *et al.* 2019) sur les communautés de certains insectes pollinisateurs. Il a en effet été montré que l'urbanisation croissante des villes tend à faire diminuer les communautés de coléoptères, diptères et lépidoptères au profit d'espèces plus généralistes d'hyménoptères (Deguines *et al.* 2016). Ce programme permet également d'engager les citoyens dans des démarches de connaissance et de protection des pollinisateurs. Ce dernier point peut paraître anecdotique mais la participation de citoyens dans des programmes de sciences participatives est un levier majeur pour les impliquer dans des démarches de la protection de la nature (Cosquer *et al.* 2012). De plus, atteindre l'objectif fixé par le règlement sur la restauration de la nature d'inverser le déclin des populations de pollinisateurs ne pourra se faire qu'avec l'implication de l'ensemble de la population, ce qui inclut le grand public. Sur ce point, seuls les protocoles non létaux, comme le SPIPOLL ou son analogue britannique le *FIT Counts* (*Flower-Insect Timed Counts* ; voir Encadré 1), nous

paraissent être adaptés pour impliquer le grand public, les autres devant être réservés aux professionnels et/ou aux amateurs avertis.

Encadré 1 : Comparaison des protocoles SPIPOLL et *FIT Counts*

Le programme SPIPOLL et son analogue britannique, le *FIT Counts* (United-Kingdom Centre for Ecology and Hydrology *et al.* 2024) sont deux programmes de sciences participatives basés sur le comptage des insectes floricoles sur une espèce florale donnée. Bien que ces deux programmes soient relativement identiques en termes de mise en place du protocole, quelques paramètres changent : (i) la durée du protocole est de 20 minutes pour le SPIPOLL alors qu'elle n'est que de 10 minutes pour le *FIT Counts*, (ii) les insectes doivent être comptés dans un rayon de 5 mètres autour de l'espèce florale choisie dans le SPIPOLL alors qu'ils ne le sont que dans un quadrat de 50 x 50 centimètres pour le *FIT Counts*, (iii) l'espèce florale est totalement libre dans le SPIPOLL alors qu'elle doit faire partie d'une liste pré-établie dans le *FIT Counts*, et enfin, (iv) la date d'échantillonnage est complètement libre dans le SPIPOLL alors qu'elle est restreinte entre le 1^{er} avril et le 30 septembre pour le *FIT Counts*.

Par ailleurs, en termes de données émises, ces deux programmes diffèrent également sur plusieurs points. Tout d'abord, le SPIPOLL regroupe les individus de chaque espèce en classes d'abondance (c'est-à-dire 1 individu, entre 2 et 5 individus ou > 5 individus) alors que le *FIT Counts* en fait un dénombrement intégral. Ensuite, le SPIPOLL offre des possibilités d'identification beaucoup plus poussées que le *FIT Counts* pour les utilisateurs grâce à une clé d'identification progressive pouvant mener à 616 taxons terminaux (classement en seulement 11 morphogroupes pour le *FIT Counts*). De plus, tous les insectes sont obligatoirement pris en photographies dans le SPIPOLL ce qui n'est pas le cas dans le *FIT Counts*. Enfin, toutes les identifications faites dans le cadre du SPIPOLL ont besoin d'être vérifiées par *a minima* trois utilisateurs pour être validées alors qu'aucune validation n'est réalisée dans le *FIT Counts*. Ainsi,

à la vue de l'ensemble de ces éléments, le SPIOLL semble être plus approprié que le *FIT Counts* pour éventuellement intégrer l'EU PoMS.

2.1.2. Autres programmes de sciences participatives

D'autres programmes de sciences participatives portant sur les insectes pollinisateurs existent à l'échelle nationale mais ils ne sont pas adaptés à l'EU PoMS car ils sont centrés sur 1) un seul type d'habitat (par exemple, l'Observatoire agricole de la biodiversité est uniquement centré sur le milieu agricole), 2) sur un seul groupe d'espèces (par exemple Observatoire des bourdons et Opérations Papillons) ou 3) sur un seul groupe d'espèces dans un seul type d'habitat (par exemple, le Programme Propage est centré uniquement sur les papillons au sein des espaces verts urbains). Ainsi, ces restrictions dans leur champ d'application les rendent moins pertinents que le programme SPIOLL pour une surveillance des insectes pollinisateurs dans le cadre de l'EU PoMS.

Par ailleurs, bien que le protocole eBMS (*European Butterfly Monitoring Scheme*) et sa déclinaison française, le STERF (Suivi Temporel des Rhopalocères de France), soient aussi des programmes de sciences participatives, ceux-ci sont traités dans le paragraphe ci-dessous car ils sont fondés sur l'utilisation de transects pédestres.

2.2. Transects pédestres

Pour la réalisation de transects, deux méthodes principales peuvent être utilisées : soit avec une reconnaissance à vue (qui peut être faite sans capture ou avec capture au filet à papillons puis relâché des individus) soit avec capture puis prélèvement des individus pour identification. Dans les deux cas, ces méthodes présentent un biais en faveur des espèces de moyenne et grande taille, qui sont bien visibles, telles que les bourdons, par rapport aux espèces de petites taille

moins visibles telles que les *Hylaeus* (O'Connor *et al.* 2019 ; Hutchinson *et al.* 2021). Un biais observateur dépendant de son habileté à la capture au filet est également à considérer. Ainsi, contrairement aux autres méthodes de sciences participatives, un budget dédié à la formation des volontaires à la capture au filet et à la reconnaissance des principales espèces (*a minima*) est à prendre en compte.

Dans le cas où un filet à papillon est utilisé pour attraper des papillons, les individus sont dérangés s'ils sont ensuite relâchés, voire tués s'ils sont prélevés, alors que certaines de ces espèces peuvent être protégées, ce qui interdit la capture et la destruction, voire la perturbation intentionnelle des animaux dans le milieu naturel. Une demande de dérogation espèces protégées doit alors être émise, ce qui implique des démarches administratives et un temps de traitement de dossier à considérer avant le déploiement du protocole EU PoMS. Il est à noter que parmi les groupes d'insectes pollinisateurs d'intérêt de l'EU PoMS, les papillons de jour et de nuit comptent des espèces protégées, mais pas les abeilles et les syrphes, qui ne sont donc pas concernées par ce sujet (Ministre de l'agriculture et de la pêche & Ministre de l'écologie et du développement durable 2007). Par ailleurs, le filet à papillon étant une méthode de collecte sélective, les demandes de dérogation espèces protégées pourront ne porter que sur les papillons de jour avec cette méthode.

2.2.1. Identification sans capture ou avec capture au filet à papillon puis relâché

La réalisation de transects fondés sur la non-mise à mort des individus présente l'avantage notable d'être non létale. Cependant, de nombreuses espèces n'étant pas identifiables au niveau de l'espèce uniquement à vue, les données récoltées seront regroupées au sein de morphogroupes pour certains groupes d'espèces. En effet, seule une majorité de papillons de jour (c'est-à-dire Papilionoidea et Zygeanidae, voir Encadré 2), quelques espèces de syrphes et

quelques espèces d'abeilles pourront être identifiées à l'espèce à vue. L'essai de cette méthode dans le cadre du projet SPRING s'est avéré compliquée à mettre œuvre pour le groupe des abeilles et des syrphes, notamment pour le classement des spécimens dans les différents morphogroupes qui étaient pourtant très larges (communication personnelle d'Arzhvaël Jeusset basée sur sa propre expérience et les retours de divers autres volontaires français, 2 mai 2024). La plupart des espèces de syrphes étaient difficiles à placer dans un morphogroupe, de même que les abeilles d'environ 1 centimètre, à cheval entre le morphogroupe « Grandes abeilles de plus de 10 millimètres » et celui de « Petites abeilles de 3 à 10 millimètres » (voir le détail des différents morphogroupes dans SPRING consortium 2022). Par ailleurs, les résultats obtenus par cette méthode risquent d'être difficilement comparables non seulement entre observateurs dont les compétences naturalistes sont différentes, mais aussi entre les différents passages, chaque observateur progressant au fur et à mesure des années, surtout au début (Adrien Perrard, réponse au questionnaire non public sur la mise en œuvre de l'EU PoMS du Ministère de l'Écologie aux membres du Conseil scientifique du Plan pollinisateurs). Ce biais peut être réduit (mais pas annulé) par la formation des observateurs de terrain, qui entraîne cependant des coûts à prévoir.

De plus, bien que cette méthode reste peu coûteuse en termes de matériel, certains frais ne doivent tout de même pas être négligés. C'est le cas notamment des frais liés à l'animation du réseau (lien avec les bénévoles, suivi financier, restitution des résultats), des frais liés au temps de terrain par agent et des frais de déplacement. Ainsi, les estimations faites dans le cadre de ce travail suggèrent un coût de mise en œuvre annuel d'environ 1,5 millions d'euros et ce, hors frais de formation ou d'animation de réseau (voir Annexe 4). Un autre inconvénient de cette méthode réside dans l'impossibilité de faire valider par un expert les identifications, les individus n'étant ici ni photographiés ni conservés. Ainsi, au vu de l'ensemble de ces informations, un protocole de type SPIPOLL nous paraît plus adapté pour le suivi des abeilles et des syrphes car

la précision taxonomique est meilleure qu'avec un protocole basé sur les transects pour un coût équivalent. Par contre, pour les papillons de jour, un protocole de type STERF/eBMS semble être préférable notamment car cela permet de pouvoir échantillonner aussi les espèces en vol. La combinaison de ces deux protocoles (SPIPOLL et STERF/eBMS) permettrait donc de pouvoir obtenir des tendances de populations au niveau de l'espèce pour les papillons de jour et de l'espèce ou du morphogroupe pour les abeilles et syrphes et ce, avec des méthodes non létales.

Encadré 2 : Programmes eBMS/STERF

L'utilisation de la méthode des transects avec capture puis relâché est utilisée dans des programmes de sciences participatives depuis de nombreuses années pour le suivi des papillons de jour. En effet, pour ce groupe d'espèces, le programme eBMS permet de recueillir des données selon un protocole standardisé à l'échelle européenne : en 2020, 10 816 transects étaient en place dans 22 pays européens (Butterfly Conservation Europe & Centre for Ecology and Hydrology 2025). Sa déclinaison française, le STERF a permis le suivi de 70 sites sur le territoire national en 2023 (Benoît Fontaine, communication personnelle, 26 avril 2024) et devra prendre de l'ampleur dans les années à venir afin d'atteindre les préconisations de l'EU PoMS en termes de nombre de sites à suivre (c'est-à-dire entre 183 et 238, Potts *et al.* 2021) si l'eBMS est retenu pour intégrer l'EU PoMS. Étant basé sur la participation de bénévoles avec des compétences naturalistes élevées, c'est-à-dire capables de reconnaître à vue la majorité des espèces communes présentes dans leur région, ce protocole présente également l'avantage d'être peu onéreux (estimation faite à environ 70 000 € par an actuellement pour la France et comprenant les salaires ainsi que la maintenance et le fonctionnement de la base de données, Benoît Fontaine, communication personnelle, 25 avril 2024).

Pour le suivi des papillons de jour (c'est-à-dire Papilionoidea et Zygeanidae), ce programme est plus adapté que le SPIPOLL car il permet de capter également les papillons en vol et pas uniquement ceux qui sont posés sur des fleurs. Conserver un protocole basé sur des techniques standardisées existantes comme le STERF permettrait de mobiliser les données précédemment acquises et de compléter les analyses des tendances déjà initiées pour le groupe des papillons de jour. À l'inverse, il est important de bien prendre en compte le risque de rupture de série de données en cas de remplacement du protocole STERF/eBMS par un protocole différent pour les papillons de jour dans le EU PoMS. Ces méthodes présentent finalement l'avantage d'être non létales, de fournir des données d'abondance des individus au niveau de l'espèce et de pouvoir impliquer des amateurs.

2.2.2. Identification avec capture au filet à papillon puis prélèvement des individus

Dans le cas où la réalisation des transects se fait avec capture au filet puis mise à mort des individus, une identification à l'espèce est alors possible par envoi des spécimens aux experts adéquats ou par *barcoding* (voir Encadré 3), ce qui permet alors de disposer de tendances de populations plus fines que précédemment pour les abeilles et syrphes.

Encadré 3 : Méthodes d'identification des insectes post-capture

L'utilisation de méthodes de capture prélevant un nombre important de spécimens nécessite de prévoir un dispositif adapté pour identifier les individus prélevés. Deux cas de figure sont généralement observés : soit les individus sont envoyés à des experts pour une identification manuelle soit ceux-ci sont envoyés à un laboratoire pour une identification par *barcoding*.

1. Identification manuelle

L'identification manuelle, sous loupe binoculaire, des individus capturés nécessite un niveau d'expertise très important et des experts ne sont pas toujours disponibles pour certains groupes. De même, le nombre d'individus prélevés pouvant rapidement se trouver très important, il est essentiel de s'assurer de la disponibilité d'experts en nombre suffisant en amont du déploiement d'une étude de grande ampleur afin de ne pas se retrouver avec des délais de traitement des échantillons et des coûts qui ne respectent pas respectivement les calendriers et budgets fixés. Il est à noter qu'à l'heure actuelle, les compétences d'identification sont très limitées voire absentes pour certains genres d'abeilles et peut-être de syrphes à l'échelle nationale. Réinvestir dans des plans de formations de taxonomistes et de naturalistes professionnels de ces groupes est donc primordial pour assurer la bonne mise en œuvre d'un réseau de surveillance des insectes pollinisateurs basé sur cette méthode et ce coût doit être pris en compte dans l'estimation finale. Même si cette méthode n'était pas retenue dans le protocole final EU PoMS, il serait prudent de réinvestir dans ces compétences à l'échelle nationale étant donné l'enjeu de ces groupes d'espèces pour la sécurité alimentaire humaine.

2. Utilisation du *barcoding*

Une fois les individus capturés, ceux-ci peuvent être envoyés à un laboratoire pour *barcoding*. Au préalable, les insectes sont triés par ordre et par classe de taille. Ainsi, des prélèvements de tissus (souvent une patte) seront effectués pour les insectes de grande et moyenne taille (c'est-à-dire > à 3 millimètres dans l'étude de deWaard *et al.* 2019) alors que les individus de petite taille seront entièrement mis dans le séquenceur (et ne seront donc pas conservés pour une réidentification ultérieure). Dans cette même étude, deWaard *et al.* 2019 ont estimé le coût de l'identification d'un individu à 5 \$ canadiens (soit 3,35 € au 15 juillet 2024 selon le convertisseur

de devises Google). Par ailleurs, cette méthode présente l'avantage de pouvoir rapidement diminuer le délai de traitement des échantillons par rapport à une identification manuelle. Ce paramètre est intéressant à prendre en compte notamment dans le cas où l'on souhaiterait augmenter le nombre de sites au fur et à mesure du déploiement de l'EU PoMS.

N. B. : Le *metabarcoding* est une troisième façon d'identifier les spécimens capturés. Il présente néanmoins l'inconvénient de ne pas pouvoir mesurer d'abondances, ce qui est l'objet du dispositif EU PoMS. Cette technique n'est donc pas détaillée ici mais sera développée dans le paragraphe lié à l'utilisation de tentes Malaise.

Le fait de capturer les individus nécessite de pouvoir conserver après identification les spécimens dans des Muséums, dont les espaces de collections sont pour certains déjà presque saturés (Quentin Rome, responsable scientifique des collections de Formicidae et Vespidae du Muséum national d'Histoire naturelle, communication personnelle, 16 avril 2024). La création des nouveaux espaces de stockage devra donc être anticipée le cas échéant ou une partie des spécimens devra être détruite après identification, auquel cas il ne sera plus possible de réviser une identification *a posteriori*. Dans les deux cas (c'est-à-dire identification manuelle ou *barcoding*), ces méthodes nécessitent un premier tri en amont des échantillons jusqu'à l'ordre et cette première étape ainsi que le temps passé sur le terrain par agent ne doivent pas être oublié dans l'estimation du coût final d'une étude basée sur l'une ou l'autre de ces méthodes. Ainsi, les frais liés à une telle méthode sont donc beaucoup plus élevés que si un relâché est effectué et incluent *a minima* en plus : la préparation, le matériel de conservation, l'envoi postal des spécimens, etc. Dans le cas d'une identification manuelle sous loupe binoculaire dans les conditions détaillées dans la première proposition de protocole du EU PoMS (Potts *et al.* 2021), une mise en œuvre annuelle du dispositif est estimée à environ 2,3 millions d'euros en annexe 4. À cela, s'ajoute potentiellement la création de nouveaux espaces de stockage des spécimens

prélevés. Ce dernier point concerne surtout les spécimens de syrphes et d'abeilles car, en ce qui concerne les papillons de jour, ceux-ci sont généralement identifiables à vue et ne sont donc pas systématiquement prélevés. Le coût de transects pédestres avec identification par *barcoding* n'a pas pu être évalué dans le cadre de cette étude.

2.3. Coupelles colorées

La méthode des coupelles colorées reste à ce jour une des méthodes les plus utilisées pour l'étude des communautés d'insectes pollinisateurs pour plusieurs raisons. Tout d'abord, cette méthode permet une identification des individus capturés jusqu'au niveau de l'espèce et, selon différentes études, elle est l'une des meilleures pour étudier la richesse spécifique du groupe des abeilles sauvages, ce qui justifie son intégration dans le UK PoMS (United-Kingdom Pollinator Monitoring Scheme ; Westphal *et al.* 2008 ; Carvell *et al.* 2016). Son efficacité est cependant débattue en raison du biais lié au caractère attracteur des coupelles qui varie selon les espèces – les coupelles attirent en effet beaucoup les abeilles des genres *Halictus* et *Lasioglossum* (Hudson *et al.* 2019), mais beaucoup moins les bourdons et xylocopes (Baum & Wallen 2011) par exemple – ce qui biaise les mesures d'abondance relative (Kuhlman *et al.* 2021). C'est pourquoi cette méthode est souvent couplée avec les transects pédestres au filet à papillon avec prélèvement des individus. Cette méthode est également une méthode létale, et les mêmes arguments éthiques que précédemment s'appliquent, bien que l'impact sur les populations locales d'insectes reste faible (Gezon *et al.* 2015). Une demande de dérogation espèces protégées devra ici aussi être émise, avec les inconvénients de démarches administratives et de temps de traitement de dossier que cela implique. La méthode des coupelles colorées étant non sélective, c'est-à-dire que de nombreux ordres d'insectes pourront être capturés avec celle-ci, les demandes de dérogation espèces protégées inhérentes devront porter sur tous les ordres d'insectes.

De plus, des études ont montré que l'attractivité des coupelles colorées pouvait varier en fonction du paysage environnant (Carvell *et al.* 2016). En effet, leur attractivité (et donc le nombre d'individus capturés) aura tendance à diminuer lorsque la ressource florale environnante augmente ce qui peut amener à des conclusions erronées si l'on ne tient pas compte de cet environnement floral dans les analyses (Cane *et al.* 2000 ; Mayer 2005 ; Roulston *et al.* 2007 ; Wilson *et al.* 2008 ; Kuhlman *et al.* 2021). Ainsi, pour permettre une bonne prise en compte de ce paramètre dans l'analyse des résultats, il est souhaitable que les personnes qui posent et relèvent les coupelles soient en mesure de caractériser la ressource florale environnante.

Une fois les coupelles colorées relevées, les individus capturés seront soit envoyés à des experts pour identification soit à un laboratoire pour *barcoding* (voir Encadré 3). Dans les deux cas, même si cette méthode demeure peu onéreuse à mettre en place en termes de matériel (le prix d'une coupelle colorée étant très faible), c'est principalement la méthode employée pour l'identification des insectes qui fixera son coût ainsi que la première étape de tri et le temps passé sur le terrain par agent. Les estimations faites à ce sujet suggèrent un coût annuel proche de 2,7 millions d'euros avec une identification manuelle (voir Annexe 4). Par ailleurs, à l'heure actuelle, le nombre de spécialistes français des abeilles et des syrphes est probablement trop faible pour pouvoir absorber la charge de travail proposée par le protocole avec cette méthode. Cet avis est assez généralement partagé par les experts français des pollinisateurs et a notamment été émis lors des dernières rencontres d'*Apoidea gallica* à Dardilly en février 2024 (Arzhvaël Jeusset, communication personnelle, 2 mai 2024) ainsi que par l'Opie (Office pour les insectes et leur environnement) lors de sa réponse au questionnaire non public sur la mise en œuvre de l'EU PoMS du Ministère de l'Écologie aux membres du Conseil scientifique du Plan pollinisateurs. De nouveaux spécialistes peuvent être formés en ce sens, mais cela prendra probablement plusieurs années avant qu'ils soient pleinement opérationnels pour ces groupes

dont l'identification est difficile, ce qui semble peu compatible avec le calendrier fixé pour ce dispositif, dont la mise en application et donc les premiers spécimens à identifier sont prévus dès 2026 ou 2027. Le coût d'un piégeage par coupelles colorées puis identification par *barcoding* n'a pas pu être évalué dans le cadre de cette étude. Enfin, comme précédemment, la question du stockage des insectes capturés se doit d'être soulevée, et des mesures, telles que la création de nouveaux espaces de stockage, devront être prises le cas échéant.

2.4. Pièges Malaise

La mise en place des tentes (ou pièges) Malaise nécessitant un léger savoir-faire, notamment pour repérer les couloirs de vol des insectes, une courte formation devra être effectuée par les personnes novices avec cette méthode. En effet, une mauvaise mise en place peut engendrer une sous-estimation de la communauté d'insectes pollinisateurs présents et les conclusions qui en découleront pourront être biaisées. Cette méthode est également assez onéreuse, le prix d'une seule tente Malaise pouvant aller d'une centaine à plusieurs centaines d'euros. Par contre, les pièges Malaise pouvant être laissés sur place durant plusieurs jours voire semaines, cette méthode est peu tributaire des conditions météorologiques contrairement aux méthodes présentées précédemment.

Suite à la relève des pièges Malaise, deux options sont réalisables : 1) tri et identification des individus sous loupe binoculaire ou *barcoding* ou 2) réalisation de *metabarcoding* sur l'ensemble des individus capturés. Dans tous les cas, cette méthode est létale pour les insectes et les mêmes questions concernant l'éthique et l'exemplarité vis-à-vis du public se posent. De plus, l'utilisation de pièges Malaises est une méthode non-sélective et des insectes n'étant pas des insectes d'intérêt pour le protocole EU PoMS seront également piégés. Cette non-sélectivité est un inconvénient si les spécimens non ciblés et capturés ne sont pas valorisés, mais représente un avantage si ces spécimens sont valorisés dans le cadre d'un programme de surveillance de la

biodiversité terrestre plus large que l'EU PoMS, auquel cas cette méthode fournira des données sur les autres groupes d'espèces que les pollinisateurs sans coût supplémentaire. Suivant le temps de pose choisi, le nombre d'insectes piégés peut également être beaucoup plus élevé avec le piège Malaise qu'avec les autres méthodes et son impact sur les populations d'insectes reste sous-étudié (bien qu'il soit marginal par rapport à d'autres pressions comme la destruction d'habitats et les pesticides par exemple). La mise en place d'études complémentaires à ce sujet serait donc à envisager avant un potentiel déploiement à l'échelle européenne. Toutefois, le fait que les pièges Malaise capturent un grand nombre d'individus permet d'avoir une probabilité de détection des espèces plus importante qu'avec les autres méthodes (Geiger *et al.* 2016). Une demande de dérogation espèces protégées devra ici aussi être émise, avec les inconvénients de démarches administratives et de temps de traitement de dossier que cela implique. La méthode des pièges Malaise étant non sélective, c'est-à-dire que de nombreux ordres d'insectes pourront être capturés avec celle-ci, les demandes de dérogation espèces protégées inhérentes devront porter sur tous les ordres d'insectes.

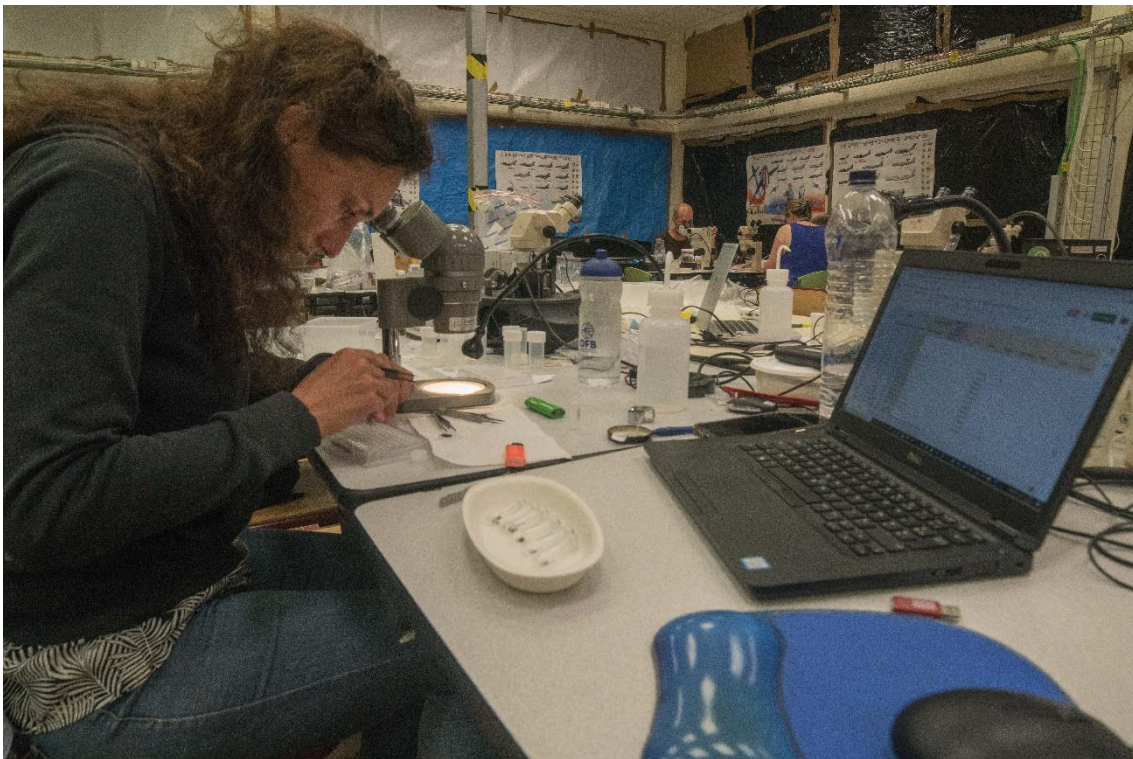
Il est également à mentionner, qu'actuellement, ce type d'approche de surveillance fondée sur des pièges Malaise se développe au niveau international, avec notamment une ambition collective de développer une telle surveillance sur le long terme (par exemple dans le cadre du projet BIOSCAN porté par iBOL). Une convergence entre ce type d'initiatives et l'EU PoMS est donc à réfléchir lors de son déploiement.

Pour conserver les avantages du piège Malaise mais en réduire les inconvénients, la technique du piège cornet unidirectionnel a été mise au point et pourrait être retenue pour l'EU PoMS. Cette méthode permet notamment de réduire le nombre de spécimens piégés et donc le coût de traitement (Sarhou 2009).

2.4.1. Tri et identification individuelle des spécimens

Une fois la relève des pièges Malaise effectuée, deux niveaux d'identification successifs doivent être réalisés sur les individus capturés. Le premier est un tri au niveau taxonomique de l'ordre (par exemple hyménoptère, diptère, lépidoptère) voire de la famille ou du genre et nécessite une expertise limitée. À la suite de ce premier tri, les échantillons seront soit envoyés aux experts spécialistes qui effectueront l'identification jusqu'à l'espèce soit envoyés pour *barcoding* (suite à un prélèvement de tissu de chaque spécimen, Crédit photo : Jean Ichter

Figure 1). En effet, si la première étape d'identification peut être réalisable par la personne relevant le piège Malaise après une courte formation, il n'en est pas de même pour la seconde.



Crédit photo : Jean Ichter

Figure 1 : Préparation d'échantillons d'invertébrés en vue d'un *barcoding*

2.4.1.1. Identification manuelle

Dans le cas où les spécimens sont envoyés à des experts, il est particulièrement important de s'assurer ici en amont de la disponibilité en spécialistes concernés notamment dû au fait que le

nombre d'insectes capturés par piège Malaise peut rapidement être très conséquent (à savoir plusieurs centaines d'individus en une semaine de pose, deWaard *et al.* 2019). Par ailleurs, le coût pour une identification manuelle posant déjà question pour la méthode des coupelles colorées (où le nombre de spécimens récoltés est moindre) avec une estimation à plusieurs millions d'euros, celui-ci serait *de facto* beaucoup plus élevé avec les tentes Malaise ce qui ne paraît pas réaliste au vu des budgets actuels alloués à la surveillance des pollinisateurs.

2.4.1.2. Identification par *barcoding*

Dans le cas où les spécimens sont envoyés pour *barcoding*, le délai de traitement des échantillons peut se trouver être nettement diminué car cette méthode ne dépend pas de la disponibilité d'experts naturalistes pour l'identification. Des taxonomistes sont tout de même nécessaires dans les cas où une incertitude taxonomique demeure et doit être levée, par exemple pour les spécimens dont le code-barre n'est pas encore en librairie de référence ou pour ceux dont le code-barre ADN (acide désoxyribonucléique) renvoie à plusieurs espèces. Cependant, les estimations financières suggèrent un coût total d'environ 42 millions d'euros par an (voir Annexe 4), ce qui n'est pas envisageable. À titre d'exemple, lors d'un programme national suédois, 73 tentes Malaises ont été déployées pendant trois ans. Le nombre de spécimens récoltés a été évalué à $15,4 \pm 2,4$ millions et, après quinze ans, seul 1 % de ces spécimens ont pu être identifiés (coût total de l'étude estimée à 3,1 millions de dollars américains soit environ 2,9 millions d'euros, Karlsson *et al.* 2020).

Ainsi, si l'on considère le plan d'échantillonnage actuellement prévu pour le déploiement de l'EU PoMS, à savoir 238 sites à l'échelle nationale avec une fréquence de 6-10 passages par an, ces méthodes ne sont actuellement pas réalisables en termes de ressources humaines pour le tri des échantillons que cela soit pour une identification manuelle ou par *barcoding*. Des procédés sont actuellement en cours pour automatiser le processus de tri, voire d'identification, des

insectes avec des robots (Wührl *et al.* 2022) mais, bien que les résultats paraissent prometteurs, ils n'en sont actuellement qu'aux étapes de recherche et développement. Cependant, dans les deux cas, ces méthodes ont l'avantage de procurer une bonne représentativité de la communauté d'insectes car elles permettent l'obtention de données d'abondance de l'ensemble des espèces présentes.

2.4.2. Identification par *metabarcoding* des spécimens

La seconde technique consiste à analyser l'ensemble du contenu du piège par *metabarcoding*. Cette méthode est beaucoup moins chronophage en termes d'experts devant être mis à disposition mais reste onéreuse, même si l'augmentation des volumes d'échantillons fait considérablement diminuer les coûts. Les estimations faites dans le cadre de ce travail en se basant sur un réseau de 238 sites et une fréquence annuelle de 6 passages suggèrent un coût annuel de mise en œuvre d'environ 230 000 € (voir Annexe 4). De plus, les protocoles utilisant du *metabarcoding* sont de plus en plus souvent non destructifs, l'extraction d'ADN se faisant par lyse dans un gros volume et les insectes sont ensuite récupérés et conservés si nécessaire. Enfin, cette méthode ne demande pas un besoin d'expertise important et une augmentation du nombre de sites au fur et à mesure de l'étude est facile à mettre en œuvre. Testée dans le cadre du protocole-pilote SPRING en Allemagne, Hongrie et Grèce, il a été montré que les données issues de cette méthode étaient assez rapidement disponibles (de l'ordre d'un ou deux mois, réunion finale du programme SPRING du 23 janvier 2024). Dans le cas où elle serait utilisée dans le cadre du protocole EU PoMS, cela impliquerait qu'une base de données complète de codes-barres ADN des groupes de pollinisateurs ciblés soit disponible à l'échelle européenne. À l'heure actuelle, à l'échelle de la France hexagonale et de la Corse, la base de données de codes-barres ADN est complète à 92 % pour les lépidoptères (100 % pour les papillons de jour et 92 % pour les autres familles de papillons), 91 % pour les hyménoptères (91 % pour les abeilles), 72 % pour

les diptères (87 % pour les syrphes) et seulement à 63 % pour les coléoptères (Lucas Sire, communication personnelle, 15 avril 2024). Cependant, une dynamique a récemment été lancée à l'échelle nationale pour la mise en place d'un référentiel public national de séquences ADN pour l'identification des espèces. Ce contexte actuel favorable en France (et également à l'échelle européenne) est particulièrement prometteur vis-à-vis de la complétion des bibliothèques de code-barres ADN. Enfin, à l'heure actuelle des connaissances, l'utilisation du *metabarcoding* permet d'estimer uniquement la biomasse des communautés (et non l'abondance) et l'obtention de tendances d'abondance de populations est impossible (Liu *et al.* 2020 ; Le Borgne & Bouget 2024). Ainsi, l'intégration de méthodes fondées sur l'utilisation de *metabarcoding* au sein de l'EU PoMS ne peut être envisagée seule si le choix de mesurer des tendances d'abondance est maintenu. En outre, il est à noter que les technologies de séquençage évoluant avec le temps, un risque de biais dans la série temporelle dans le cas d'un suivi à long terme tel que celui envisagé pour l'EU PoMS est à considérer.

2.5. ADN environnemental de fleurs et *metabarcoding*

À la différence du barcoding réalisé sur des tissus ou des spécimens isolés au préalable et du metabarcoding réalisé sur un mélange de spécimens de plusieurs espèces issues d'un dispositif de piégeage (on parle dans ce deuxième cas d'ADN massal), le barcoding (lorsqu'une seule espèce cible est recherchée) et metabarcoding (lorsque plusieurs espèces sont recherchées en même temps) de l'ADNe (ADN environnemental) est réalisé avec de l'ADN extrait à partir d'échantillons environnementaux, comme l'eau, les sols, l'air, la végétation, etc. (Lacoeuilhe *et al.* 2024).

La méthode de l'ADNe de fleurs se fondant sur la technique du *metabarcoding*, elle présente les mêmes avantages (par exemple absence de biais observateur et identification au niveau de

l'espèce) et inconvénients (par exemple données de présence/absence uniquement et disponibilité des librairies de référence de codes-barres ADN) que ceux cités au paragraphe précédent. Cette méthode présente également des inconvénients additionnels. Ici, chaque fleur est considérée comme un échantillon à part entière pour le *metabarcoding*. Dû à cette multitude d'échantillons, cette méthode se révèle être plus onéreuse que lorsque l'on fait du *metabarcoding* à partir d'un piégeage par tente Malaise (environ 34 € par flacon d'échantillon, Rodolphe Rougerie, communication personnelle). Par ailleurs, une fleur peut être contaminée par des particules volatiles issues d'insectes qui ne se seraient pas posés sur celle-ci mais qui auraient été apportées par le vent, biaisant ainsi les résultats (Adrien Perrard, communication personnelle, 15 novembre 2024). Finalement, un insecte peut se poser sur une fleur sans la polliniser et cette méthode ne permet donc pas d'informer sur les interactions plantes-pollinisateurs.

Cette méthode est non létale pour les insectes puisqu'elle consiste à prélever uniquement des fleurs, sur lesquelles l'insecte a pu laisser des traces d'ADN avant de s'envoler, et non à capturer ces insectes. Cependant, en prélevant la fleur, on prélève l'organe reproducteur de la plante et tous les végétaux ne possèdent pas une autre alternative pour se reproduire. Il est également à noter qu'à notre connaissance, cette option n'a pas été proposée dans le cadre des négociations du EU PoMS.

2.6. Seaux à LED à papillons de nuit

Dans le cadre de SPRING, des tests ont été effectués aux Pays-Bas avec le système de seaux à LED (diode électroluminescente) tel que décrit en Annexe 3 (Butterfly Conservation Europe & Centre for Ecology and Hydrology 2024 ; Helmholtz Centre for Environmental Research & United-Kingdom Centre for Ecology and Hydrology 2023). Ces tests ont permis de mettre en évidence une bonne précision d'identification des espèces capturées par intelligence artificielle. Du fait

de sa simplicité, c'est actuellement le protocole qui paraît le mieux à même d'intégrer EU PoMS pour le suivi des papillons de nuit (c'est-à-dire ensemble des Lépidoptères sauf Papilionoidea et Zygeanidae). Les résultats pouvant fortement varier selon le type de système LED utilisé, il est important que ce système soit le même dans tous les sites et dans le temps afin de ne pas induire de biais à ce niveau. À l'heure actuelle, les systèmes de LED fonctionnant le mieux pour les papillons de nuit sont les différents modèles de LepiLED mais ceux-ci ont un coût non négligeable (entre 400 € et 500 € l'unité). Un autre système lumineux semble avoir été utilisé dans le cadre de ce test, à un coût probablement moins élevé, mais nous n'avons pas trouvé de précisions à ce sujet dans la littérature et sur internet. Au coût du système lumineux doit aussi être ajouté celui du système d'alimentation par batterie. Par ailleurs, comme tout suivi temporel qui repose sur une technologie relativement récente, celle-ci est susceptible d'évoluer dans le temps, ce qui peut entraîner un biais dans la série temporelle. En termes d'utilisation, ce type de piège nécessite une bonne dextérité et une certaine expérience de la part de l'utilisateur car plusieurs paramètres peuvent influencer la fiabilité du relevé (par exemple heure du relevé et manipulation très précautionneuse du piège lors du relevé du lendemain matin pour ne pas induire de vibrations qui feraient s'échapper les spécimens). De plus, son fonctionnement reposant sur l'utilisation d'une intelligence artificielle (voir Encadré 4), la question d'une intelligence artificielle aussi efficace dans tous les pays européens se pose, notamment pour les pays méditerranéens et les pays alpins qui abritent une richesse spécifique très largement supérieure à celle des pays septentrionaux dans lesquels cette méthode a été testée. D'autres méthodes existent pour étudier les papillons de nuit mais l'objectif de ce paragraphe n'est pas de les lister de manière exhaustive. Celui-ci a en effet plutôt pour vocation d'étudier la possibilité d'ajouter un module pour augmenter la couverture taxonomique de l'EU PoMS à ce groupe de pollinisateurs nocturnes essentiels.

Encadré 4 : Utilisation de l'intelligence artificielle

Ce paragraphe se concentre sur l'utilisation de l'intelligence artificielle utilisant des photographies pour identifier les insectes pollinisateurs. En effet, d'autres types d'intelligence artificielle (par exemple, basée sur la bioacoustique) sont également en cours d'étude mais ils ne seront pas traités ici au vu de leur très faible niveau de développement à l'heure actuelle.

Les premiers algorithmes pour identifier les espèces à partir de photographies sont déjà utilisés en Europe de l'Ouest, via des applications telles que iNaturalist ou ObsIdentify par exemple. Il est à noter cependant que le niveau de reconnaissance de ces algorithmes est très variable selon les groupes d'espèces. En effet, un projet mené par iNaturalist montre que les punaises (hétéroptères) et les papillons de nuit (hétérocères) sont facilement reconnaissables contrairement aux lépidoptères (ce qui peut apparaître comme contre-intuitif). De même, les abeilles solitaires et les bourdons sont également très difficilement identifiables à l'heure actuelle et les identifications faites sur ces groupes ne peuvent pas être considérées comme fiables. Pour être effective, cette méthode requiert plusieurs centaines d'images manuellement validées par espèce, voire plus si différentes formes ou angles de la même espèce doivent être reconnues (par exemple multiples couleurs possibles et dimorphisme sexuel). Par ailleurs, des ordinateurs puissants ou des clusters informatiques sont généralement requis pour entraîner le réseau, cependant, une fois que celui-ci est suffisamment entraîné, il ne nécessite plus une grande capacité de traitement et peut être exécuté sur un téléphone mobile par exemple. Cette technologie demeure actuellement à ses balbutiements et n'est pas aujourd'hui capable de distinguer correctement l'ensemble des taxons d'insectes pollinisateurs (même à un niveau d'identification assez large) ce qui la rend inéligible pour l'EU PoMS.

2.7. Autres méthodes

Les pièges à appât et pièges à phéromones sont particulièrement utiles lors d'une étude focalisée sur un groupe d'espèces uniquement car les appât ou phéromones mises au sein du piège diffèrent selon le groupe d'intérêt. Le protocole EU PoMS ayant pour objectif d'étudier l'ensemble des insectes pollinisateurs, ces méthodes ne peuvent être utilisées que pour l'ajout de l'étude d'un groupe d'intérêt spécifique à ceux inclus dans l'EU PoMS.

Des modules concernant l'étude des espèces rares et/ou menacées pourront également être ajoutés, pour lesquels des méthodes adaptées à chaque espèce devront être utilisées. En effet, il est peu probable que ces espèces soient détectées en nombre de spécimens suffisant dans le cadre du protocole standard qui sera choisi pour pouvoir en dégager des tendances. Ce point a notamment été discuté lors du 7^{ème} rassemblement du groupe de travail STING. Les recommandations (non publiées) qui y ont été faites incluent la prise en compte des évaluations des Listes rouges et vertes, la date de la dernière donnée d'occurrence et la distribution des espèces. Par ailleurs, il est probable que les espèces rares et/ou menacées soient surtout présentes dans les milieux les mieux préservés, qui sont aussi souvent des espaces protégés. La contribution des aires protégées françaises dans ces modules sera donc particulièrement attendue et estimable.

3. STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE

3.1. Choix des sites

D'après les premiers groupes de travail de l'EU PoMS et les résultats du SPRING, le nombre de sites d'échantillonnage à déployer à l'échelle du territoire français serait de 238 sites avec une fréquence de passage s'étalant entre 6 et 10 visites par an (Potts *et al.* 2021). Cependant, ce

nombre n'a pu être testé ni dans le cadre du projet SPRING ni dans le cadre de ce travail par manque de temps et de moyens humains disponibles. Ce point est particulièrement dommageable car une stratégie d'échantillonnage mal construite peut conduire à ne pas pouvoir répondre aux objectifs fixés par l'étude. Dans le cadre de l'EU PoMS, une stratégie d'échantillonnage non-adaptée pourrait amener à ne pas pouvoir estimer correctement les tendances de populations des pollinisateurs et, *in fine*, à ne pas pouvoir statuer sur l'inversion de la tendance au déclin de ces derniers. À la vue des enjeux ainsi que des moyens humains et financiers déployés pour l'EU PoMS, c'est un risque qu'il nous semble peu judicieux de prendre. Ainsi, bien que nous ne soyons pas en mesure de nous prononcer sur la pertinence du nombre de sites préconisés et sur la fréquence du nombre de visites, une démarche statistique possible pour dimensionner un dispositif de suivi des pollinisateurs est proposée en Annexe 5, au moins pour ce qui concerne l'échantillonnage des sites. Par ailleurs, nous insistons sur l'importance de prendre en compte la possibilité que le suivi de certains sites soit abandonné en cours de protocole pour divers motifs (coupure budgétaire, démobilisation de volontaires, changement de fonction de professionnels en charge de suivis, etc.) sans que cela ne remette en question la robustesse des tendances de population obtenues.

Dans le cadre de l'EU PoMS, l'échantillonnage aléatoire simple stratifié avec allocation proportionnelle de l'effort d'échantillonnage pourrait facilement être mis en œuvre (c'est-à-dire qu'au sein d'une strate, chaque unité d'échantillonnage a une chance égale d'être incluse dans l'échantillon et plus une strate sera représentée sur le territoire, plus elle sera échantillonnée). Une première variable de stratification concernerait les différentes zones biogéographiques du territoire (à savoir, alpine, méditerranéenne, atlantique et continentale) et une seconde variable de stratification concernerait le type d'occupation du sol. En effet, la composition (richesse et abondance) des pollinisateurs étant très fortement liée au type d'habitat, prendre en compte ce facteur dans l'établissement de la stratégie d'échantillonnage est primordial pour obtenir un jeu

de données équilibré et éviter une sur-représentation des zones naturelles. Le type d'habitat dans lequel est situé le site d'échantillonnage pouvant évoluer au cours du temps, ce facteur devra être renseigné avant toute nouvelle série d'échantillonnage tout au long de la mise en place de l'EU PoMS.

Cependant, pour des questions de faisabilité logistique, ce type d'échantillonnage ne peut pas être appliqué tel quel. Tout d'abord, certains sites tirés aléatoirement par cette procédure peuvent être inaccessibles (par exemple zone militaire, terrain privé pour auquel l'accès serait refusé dans le cadre de ce protocole, site à fort escarpement, zone inondée de façon permanente ou temporaire, site à végétation trop dense, etc.) et une étude foncière et topographique doit être menée en amont ou en aval pour tenir compte de ces facteurs. Le protocole pilote SPRING délègue cette tâche aux bénévoles, ce qui ne nous semble pas viable pour l'EU PoMS étant donné par exemple la complexité et le niveau d'expertise requis pour identifier le propriétaire d'un espace et obtenir l'autorisation légale d'y conduire un protocole. Ensuite, les sites devront être situés à une distance acceptable du lieu d'habitation ou de travail de la personne qui conduira l'échantillonnage des insectes. En effet, si le site se trouve trop distant géographiquement de l'observateur, le risque que ce site ne soit pas suivi selon la fréquence de visites définie par le protocole est grand, ce qui générerait sans doute un important phénomène de non-réponse.

Ainsi, la liste de l'ensemble des contraintes en matière d'objectifs, de faisabilité et de statistique fait qu'il nous est impossible de pouvoir établir dans le cadre de ce travail une stratégie d'échantillonnage précise pour l'EU PoMS. Ceci représente un important travail à lui seul qui demande une expertise dans le domaine.

Une fois la stratégie d'échantillonnage établie, il en résultera une liste de sites sur lesquels l'échantillonnage des insectes devra être réalisé. Il sera alors souhaitable que ces sites soient

suivis par un réseau d'agents permanents (par exemple salariés d'associations naturalistes ou gestionnaires d'espaces naturels) et non de bénévoles afin de pérenniser les suivis dans le temps. Par la suite, des sites pourront éventuellement être ajoutés au fur et à mesure du développement de l'EU PoMS suivant les mêmes conditions que les sites initiaux. Ces nouveaux sites, qui pourront cette fois être suivis par des bénévoles, seront des sites additionnels qui permettront d'améliorer la précision des analyses de tendances de populations, mais la quantité minimale de données nécessaire pour ces analyses ne reposera pas sur leur participation (voir Encadré 5). Enfin, afin que les résultats soient comparables entre les pays, cette stratégie d'échantillonnage doit être établie à l'échelle européenne et non au sein de chaque État membre (Biodiversa+ 2024).

Encadré 5 : L'implication des bénévoles, un facteur à ne pas négliger

Les bénévoles sont des personnes amatrices, issues du grand public, expertes ou non des pollinisateurs et non-salariées d'une structure de protection de la nature au sens large. Ces personnes représentent un enjeu majeur pour la protection de la biodiversité, et par conséquent, des pollinisateurs (Cosquer *et al.* 2012). Afin d'assurer la pérennité de leur participation à des programmes de suivis et de surveillance de la biodiversité, ces programmes doivent s'assurer de stimuler chez eux un intérêt intellectuel. C'est notamment le cas du programme SPIPOLL qui leur permet de développer leur capacité d'identification au fur et à mesure du temps mais ça ne le serait pas dans le cadre d'un protocole basé sur l'utilisation des coupelles colorées où les spécimens seraient envoyés à des experts ou à des laboratoires pour identification. Ainsi, même si le choix des sites d'échantillonnage doit être régi en priorité par des enjeux statistiques, il est important de garder à l'esprit que ce choix aura des conséquences sur l'implication potentielle de bénévoles (réticence à s'impliquer dans une zone agricole

intensive avec présence de très peu d'insectes par exemple) et, *in fine*, sur la protection des pollinisateurs.

3.2. Conditions d'échantillonnage

La composition des communautés de pollinisateurs obtenue par les dispositifs d'échantillonnage citées dans ce document sont très souvent liées aux conditions météorologiques. En effet, l'activité des insectes étant fortement corrélée avec ce facteur, il est important que l'échantillonnage des insectes se déroule dans des conditions météorologiques relativement semblables (standardisation du protocole de terrain).

De nombreux protocoles (par exemple protocole pilote SPRING et protocole STERF) ont déjà établi les conditions météorologiques optimales pour l'échantillonnage des insectes pollinisateurs et nous préconisons de les conserver pour l'EU PoMS. Ainsi, l'échantillonnage devra idéalement être réalisé dans les conditions suivantes :

- Présence d'une couverture nuageuse d'au maximum 75 % et sans pluie pour les insectes diurnes ;
- Vent inférieur à 30 kilomètres/heure (5 sur l'échelle de Beaufort) sauf dans les régions habituellement très venteuses (bords de mer, basse vallée du Rhône) où cette limite est portée à 50 kilomètres/heure ;
- Température d'au moins 13 °C si le temps est ensoleillé ou faiblement nuageux ou d'au moins 17 °C si le temps est nuageux.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Suite au constat du déclin des populations d'insectes pollinisateurs à l'échelle européenne, la Commission Européenne a sollicité, dès 2019, un groupe d'experts pour proposer un schéma de

suivi biologique des insectes pollinisateurs, ce qui a abouti à une proposition d'EU PoMS (pour « European Union Pollinator Monitoring Scheme »). Ce schéma préfigure le suivi biologique prévu pour le projet de règlement de l'Union européenne relatif à la restauration de la nature (article 8), dont l'objectif est d'apprécier l'abondance et la diversité des pollinisateurs au sein de chaque État membre, de mesurer les tendances d'évolution de leurs populations et par là, d'essayer d'apprécier l'effet des mesures prises en faveur des pollinisateurs. Cette proposition d'EU PoMS s'appuie sur le programme UK PoMS (*United-Kingdom Pollinator Monitoring Scheme*) déjà en place. Le programme UK PoMS se base sur le couplage de deux protocoles : le *FIT Counts* (prise en photo de l'ensemble des insectes se posant sur une espèce précise de fleurs dans un carré de 50 x 50 centimètres pendant 15 minutes) et la méthode des coupelles colorées. La question de l'applicabilité de ce même programme à l'échelle européenne se pose néanmoins, notamment dans les régions méditerranéennes et alpines où le nombre et l'abondance des espèces sont bien supérieurs qu'au Royaume-Uni et à la vue du coût financier de leur mise en œuvre (estimation minimale de plus d'un million d'euros par an, Annexe 4).

Afin d'étudier les alternatives possibles, nous avons analysé, à travers ce document, les principales méthodes existantes pour la surveillance des communautés d'insectes pollinisateurs ainsi que leurs avantages et inconvénients majeurs (Tableau 1). Nous avons pu mettre en évidence qu'aucune méthode se révélait être parfaite mais que certaines d'entre elles pouvaient se compléter, notamment en fonction du groupe d'intérêt. Pour les abeilles et les syrphes, un protocole tel que celui déployé dans le cadre du SPIPOLL nous semble être une piste particulièrement prometteuse. Pour les papillons de jour, nous recommandons la mise en place d'un protocole tel que le STERF. Ces deux protocoles ont de nombreux avantages. Tout d'abord, ils permettent d'obtenir des données d'abondance de populations ce qui permet de pouvoir dégager ensuite des tendances de populations (objectifs central du EU PoMS). Le SPIPOLL permet en plus de relever des interactions fleurs-pollinisateurs, ce que ne permettent pas les

autres méthodes (O'Connor *et al.* 2019 ; Hutchinson *et al.* 2021). Enfin, ces deux protocoles sont non létaux ce qui est préférable d'un point de vue éthique et ce qui permet la sensibilisation du grand public. Cependant, pour le groupe des abeilles et des syrphes, le SPIPOLL ne conduit pas souvent à une identification jusqu'à l'espèce. Ainsi, afin de pallier à ce biais, nous recommandons d'y associer des pièges Malaises dont les spécimens seront identifiés par *metabarcoding* pour une meilleure connaissance de la richesse spécifique présente (Prendergast *et al.* 2020). En effet, l'identification manuelle ou le *barcoding* ne sont ici pas envisageable à la vue des moyens humains et/ou financiers qu'ils nécessiteraient ; cette remarque valant également pour la méthode des coupelles colorées (voir Annexe 4 pour l'estimation des coûts des différentes méthodes). Afin d'aider à la décision, nous avons représenté les principales méthodes figurant dans ce document au sein de la Figure .

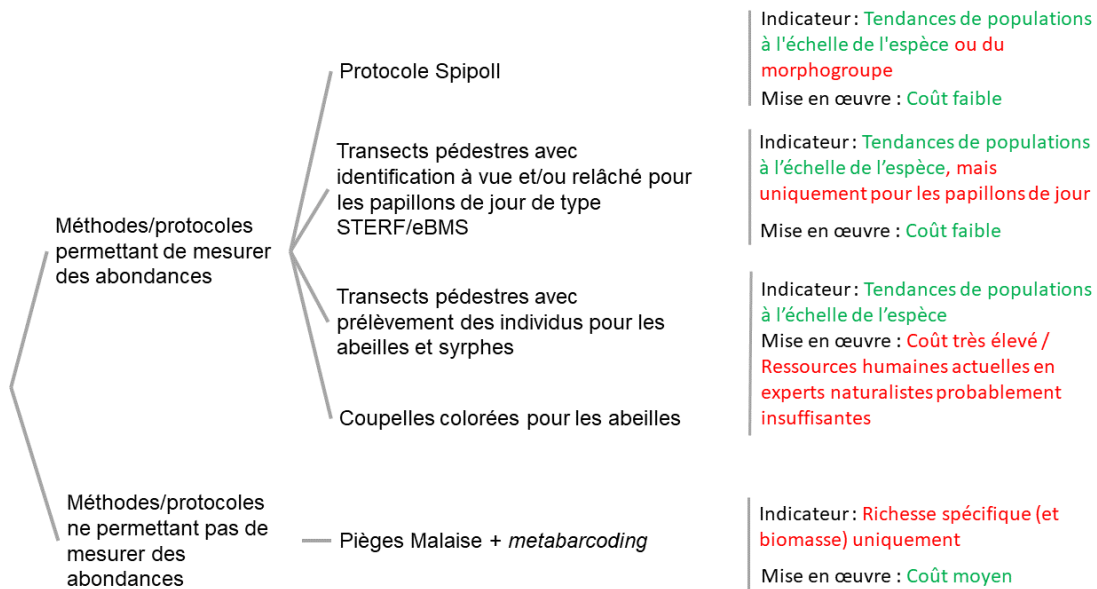


Figure 2 : Arbre décisionnel se basant sur les principaux protocoles et méthodes utilisés pour le suivi des communautés d'insectes pollinisateurs et pouvant être intégrés à l'EU PoMS

Par souci de lisibilité, seules les principaux protocoles et méthodes utilisés pour le suivi des communautés d'insectes pollinisateurs sont présentés dans cette figure. Les avantages principaux de chaque méthode sont présentés en vert alors que les inconvénients figurent en rouge.

L'ensemble des méthodes discutées ci-dessus sont des méthodes utilisées pour surveiller les communautés des trois principaux groupes de pollinisateurs visés par l'EU PoMS, à savoir les abeilles, les syrphes et les papillons de jour. Cependant, d'autres programmes peuvent s'y ajouter afin d'établir une surveillance multi taxa à un coût marginal. Par exemple, des protocoles s'inspirant du programme *LED Moth trap* (programme fondé sur l'installation de pièges lumineux) peuvent être mis en place afin de pouvoir établir une surveillance des papillons de nuit, groupe d'espèces qui n'est pas couvert par les autres méthodes et pourtant essentiel pour assurer le service de pollinisation.

Un autre module pouvant s'ajouter à l'EU PoMS concerne les espèces rares et menacées. En effet, de par leur rareté, de par leur localisation géographique très restreinte et/ou leur spécificité vis-à-vis d'un type d'habitat ou d'un type de fleurs, ces espèces nécessitent la mise en place de protocoles adaptés qui prennent en compte ces particularités. Comme il n'est ni possible, ni nécessaire de surveiller l'ensemble de ces espèces à l'échelle annuelle, des intervalles de surveillance doivent être définis selon des règles claires de priorisation : des intervalles de surveillance plus court pour les espèces à haut risque d'extinction et des intervalles de surveillance plus long pour les espèces à faible risque d'extinction (voir la Liste rouge des espèces menacées de l'Union internationale pour la conservation de la nature pour le statut de conservation des différentes espèces, International Union for Conservation of Nature 2024).

Dans tous les cas, la réussite du déploiement d'un tel programme réside également dans le fait d'établir une stratégie d'échantillonnage adaptée. Sur ce point, un nombre de sites et une fréquence de passage ont été suggérés dans la proposition d'EU PoMS (Potts *et al.* 2021) mais aucun travail statistique n'a permis de confirmer ou d'infirmer cette suggestion. De la même manière, aucune consigne n'a été donnée quant à la manière dont ces sites devaient être

positionnés. Or, une stratégie d'échantillonnage inadaptée peut conduire à ne pas pouvoir répondre aux objectifs visés de l'étude, mettant ainsi à mal tout le travail d'échantillonnage des insectes effectué. Ainsi, à la vue des enjeux et des moyens humains et financiers impliqués dans l'EU PoMS, l'établissement de la stratégie d'échantillonnage ne doit pas être négligée et des moyens humains et financiers doivent être alloués dans ce but. En ce qui concerne l'accessibilité du site sur le long terme (c'est-à-dire l'autorisation foncière), il convient de souligner que, contrairement à ce qui a été fait dans le cadre du programme pilote SPRING, ce point ne peut être laissé à la charge des observateurs qu'ils soient bénévoles ou non. Il est d'ailleurs à noter que, dans le cas du UK PoMS, les permissions d'accès aux différents sites sont assurées par la structure porteuse du projet.

Quelle que soit le protocole retenu, il faudra limiter autant que possible le risque de rupture de séries de données. Ce risque pourrait survenir en cas de protocole trop lourd à maintenir sur le long terme ou trop peu stimulant intellectuellement pour des volontaires, ce qui pourrait alors entraîner des abandons de suivi de sites. Pour éviter les ruptures de séries de données, les protocoles mis en place durant les premières années du dispositif devront être maintenus jusqu'à la fin. D'autres protocoles pourront cependant être ajoutés au dispositif EU PoMS en cours de route, au fur et à mesure que de nouvelles méthodes de suivi feront leurs preuves, comme par exemple potentiellement l'ADNe de fleurs, l'analyse acoustique des bourdonnements, l'identification de spécimens photographiés par intelligence artificielle, etc.

Par ailleurs, il est important de rappeler ici la nécessité pour la France de réinvestir dans plusieurs domaines afin que la mise en œuvre de l'EU PoMS puisse se dérouler correctement. Tout d'abord, la formation de taxonomistes et d'experts naturalistes professionnels est essentielle. À l'heure actuelle, les compétences d'identification sont très limitées voir absentes pour certains genres à l'échelle du territoire national et les expertises sont principalement

réalisées hors temps professionnel. Une telle situation ne serait être viable lors du déploiement d'un protocole de l'ampleur de l'EU PoMS et financer des temps de formation dédié à l'identification des abeilles, syrphes et papillons de jour et de nuit se révèle être plus que nécessaire. Plus largement, même si l'identification par des experts n'est pas retenue pour ce protocole, il demeure risqué pour la France de continuer à ne pas investir dans des spécialistes dédiés aux insectes pollinisateurs dont notre alimentation dépend. Par ailleurs, la mise à mort des insectes implique de l'espace pour les stocker. Comme mentionné plus haut, les collections des différents Muséums nationaux étant proches de la saturation, la création de nouveaux espaces de stockage serait à prévoir, le cas échéant. Enfin, les méthodes fondées sur le *metabarcoding* offrant des résultats prometteurs pour la surveillance des communautés écologiques, les investissements afin de compléter à 100 % les bibliothèques de codes-barres ADN à l'échelle nationale sont à maintenir, voire à amplifier.

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux protocoles et méthodes utilisés pour le suivi des insectes pollinisateurs

Méthode		Niveau d'identification taxonomique	Type de données (Abondance versus Présence/absence)	Méthode létale	Principaux biais	Niveau d'expertise requis de l'observateur de terrain	Coût (voir Annexe 4)	Identification	Conservation/ Stockage des spécimens	Disponibilité des données	Implication citoyenne	Augmentation possible du nombre de sites de suivi en cours de protocole	Informations interactions plantes-pollinisateurs	Autres
Sciences participatives	SPIPOLL	Espèce (pour la majorité des papillons de jour) ou morphogroupe (pour la majorité des hyménoptères)	Proxy d'abondances (classes)	Non	Choix du site de suivi et des fleurs selon affinité de l'observateur	Faible (validation <i>a posteriori</i>)	Faible (environ 80 000 €/an)	Sur photographies	Conservation des photographies de spécimens	Quasi immédiate	Oui	Oui	Oui	Grande couverture taxonomique
Transects pédestres	Identification à vue et/ou capture au filet avec relâché	Espèce (pour la majorité des papillons de jour) ou morphogroupe (pour la majorité des syrphes et abeilles)	Abondance	Non	Dextérité de l'observateur pour capture et sous-détection des petites espèces	Élevé	Élevé (environ 1,5 millions d'€/an)	Par observateur de terrain	Non	Quasi immédiate	Oui	Oui	Non	Demande de dérogation espèces protégées
	Capture au filet et conservation des individus	Espèce	Abondance	Oui	Dextérité de l'observateur pour capture et sous-détection des petites espèces	Faible	Élevé (>2 millions d'€/an)	Par experts naturalistes en laboratoire	Oui	Tardive	Non	Non, car expertise naturaliste limitée	Non	Disponibilité des experts Demande de dérogation espèces protégées
							Non estimé ici	Par <i>barcoding</i>	Oui, sauf très petites espèces	Rapide	Non	Non, car nombre de spécimens à barcoder trop élevé	Non	Disponibilité des librairies de référence publique de code-barres ADN Demande de dérogation espèces protégées
Coupelles colorées		Espèce	Abondance	Oui	Biais lié au caractère attracteur des coupelles suivant les ressources	Faible	Élevé (>2 millions d'€/an)	Par experts naturalistes en laboratoire	Oui	Tardive	Non	Non, car expertise naturaliste limitée	Non	Disponibilité des experts Demande de dérogation espèces protégées

					florales environnantes		Non estimé ici	Par <i>barcoding</i>	Oui, sauf très petites espèces	Rapide	Non	Non, car nombre de spécimens à barcoder trop élevé	Non	Disponibilité des librairies de référence publique de code-barres ADN Demande de dérogation espèces protégées
Pièges Malaise	Tri et identification des individus	Espèce	Abondance	Oui	Quasi inexistant	Faible	Non estimé mais très élevé (probablement >42 millions d'€/an)	Par experts naturalistes en laboratoire	Oui	Très tardive voire irréalisable	Non	Non, car expertise naturaliste limitée	Non	Ressources humaines insuffisantes Méthode non sélective Grande couverture taxonomique Demande de dérogation espèces protégées
							Très élevé (>42 millions d'€/an)	Par <i>barcoding</i>	Oui, sauf très petites espèces	Tardive	Non	Non, car nombre de spécimens à barcoder trop élevé	Non	Disponibilité des librairies de référence publique de code-barres ADN Méthode non-sélective Grande couverture taxonomique Demande de dérogation espèces protégées
	Metabarcoding	Espèce	Présence/absence Biomasse	Oui	Quasi inexistant	Faible	Moyen (environ 230 000 €/an)		Oui	Rapide (1 à 2 mois)	Non	Oui	Non	Disponibilité des librairies de référence publique de code-barres ADN Méthode non-sélective Grande couverture taxonomique

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAUM K.A. & WALLEN K.E. 2011. — Potential Bias in Pan Trapping as a Function of Floral Abundance. *Journal of the Kansas Entomological Society* 84 (2): 155–159. <https://doi.org/10.2317/JKES100629.1>

BIODIVERSA+ 2024. — *Page d'accueil*. Site internet de biodiversa+ European Biodiversity Partnership. Consulté le 15 juillet 2024. <https://www.biodiversa.eu/>

BUTTERFLY CONSERVATION EUROPE & CENTRE FOR ECOLOGY AND HYDROLOGY 2025. — *Page d'accueil*. Site internet de suivi européen des papillons eBMS. Consulté le 29 janvier 2025. <https://butterfly-monitoring.net/fr/bienvenue>

BUTTERFLY CONSERVATION EUROPE & CENTRE FOR ECOLOGY AND HYDROLOGY 2024. — *Page de méthodes de suivi des papillons*. Site internet de suivi européen des papillons eBMS. Consulté le 5 juillet 2024. <https://butterfly-monitoring.net/fr/bms-methods>

CANE J.H., MINCKLEY R.L. & KERVIN L.J. 2000. — Sampling Bees (Hymenoptera: Apiformes) for Pollinator Community Studies: Pitfalls of Pan-Trapping. *Journal of the Kansas Entomological Society* 7 (4): 225–231

CARVELL C., ISAAC N., JITLAL M., PEYTON J., POWNEY G., ROY D., VANBERGEN A., JONES C., KUNIN B., BREEZE T., GARRATT M., POTTS S., HARVEY M., ANSINE J., COMONT R., LEE P., EDWARDS M., ROBERTS S., MORRIS R., MUSGROVE A., BRERETON T. & ROY H. 2016. — *Design and Testing of a National Pollinator and Pollination Monitoring Framework*. Rapport synthétique final du United-Kingdom Centre for Ecology and Hydrology au Department for Environment, Food and Rural Affairs, Scottish Government and Welsh Government ; projet WC1101. 65 p. https://centaur.reading.ac.uk/83294/1/13755_WC1101Finalreport.pdf

COSQUER A., RAYMOND R. & PREVOT-JULLIARD A.-C. 2012. — Observations of Everyday Biodiversity: a New Perspective for Conservation? *Ecology and Society* 17 (4): art2. <https://doi.org/10.5751/ES-04955-170402>

CREER S., DEINER K., FREY S., PORAZINSKA D., TABERLET P., THOMAS W.K., POTTER C. & BIK H.M. 2016. — The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity, in FRECKLETON R. (ed.). *Methods in Ecology and Evolution* 7 (9): 1008–1018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12574>

DEGUINES N., DE FLORES M., LOÏS G., JULLIARD R. & FONTAINE C. 2018. — Fostering close encounters of the entomological kind. *Frontiers in Ecology and the Environment* 16 (4): 202–203. <https://doi.org/10.1002/fee.1795>

DEGUINES N., JULLIARD R., DE FLORES M. & FONTAINE C. 2016. — Functional homogenization of flower visitor communities with urbanization. *Ecology and Evolution* 6 (7): 1967–1976. <https://doi.org/10.1002/ece3.2009>

- DEGUINES N., JULLIARD R., DE FLORES M. & FONTAINE C. 2012. — The Whereabouts of Flower Visitors: Contrasting Land-Use Preferences Revealed by a Country-Wide Survey Based on Citizen Science, in OLLERTON J. (ed.). *PLoS ONE* 7 (9): e45822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045822>
- DEINER K., BIK H.M., MÄCHLER E., SEYMOUR M., LACOURSIÈRE-ROUSSEL A., ALTERMATT F., CREER S., BISTA I., LODGE D.M., DE VERE N., PFRENDER M.E. & BERNATCHEZ L. 2017. — Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology* 26 (21): 5872–5895. <https://doi.org/10.1111/mec.14350>
- DESAEGHER J., CHIRON F. & BESSA-GOMES C. 2023. — Nationwide study of the triple landscape gradient across natural, agricultural and urban areas for the richness of flower-visiting insects. *Biological Conservation* 288: 110355. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110355>
- DEWAARD J.R., LEVESQUE-BEAUDIN V., DEWAARD S.L., IVANOVA N.V., MCKEOWN J.T.A., MISKIE R., NAIK S., PEREZ K.H.J., RATNASINGHAM S., SOBEL C.N., SONES J.E., STEINKE C., TELFER A.C., YOUNG A.D., YOUNG M.R., ZAKHAROV E.V. & HEBERT P.D.N. 2019. — Expedited assessment of terrestrial arthropod diversity by coupling Malaise traps with DNA barcoding, in WILSON J.J. (ed.). *Genome* 62 (3): 85–95. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0093>
- DRINKWATER E., ROBINSON E.J.H. & HART A.G. 2019. — Keeping invertebrate research ethical in a landscape of shifting public opinion, in ELLISON A. (ed.). *Methods in Ecology and Evolution* 10 (8): 1265–1273. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13208>
- EUROPEAN COMMISSION 2024. — *Page de présentation du projet SPRING*. Site internet de la Commission européenne. Consulté le 15 juillet 2024. <https://wikis.ec.europa.eu/display/EUPKH/SPRING+project>
- FISCHER B. & LARSON B.M.H. 2019. — Collecting insects to conserve them: a call for ethical caution. *Insect Conservation and Diversity* 12: 173–182. <https://doi.org/10.1111/icad.12344>
- GEIGER M., MORINIERE J., HAUSMANN A., HASZPRUNAR G., WÄGELE W., HEBERT P. & RULIK B. 2016. — Testing the Global Malaise Trap Program – How well does the current barcode reference library identify flying insects in Germany? *Biodiversity Data Journal* 4: e10671. <https://doi.org/10.3897/BDJ.4.e10671>
- GEZON Z.J., WYMAN E.S., ASCHER J.S., INOUE D.W. & IRWIN R.E. 2015. — The effect of repeated, lethal sampling on wild bee abundance and diversity, in VAMOSI J. (ed.). *Methods in Ecology and Evolution* 6 (9): 1044–1054. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12375>
- HELMHOLTZ CENTRE FOR ENVIRONMENTAL RESEARCH & UNITED-KINGDOM CENTRE FOR ECOLOGY AND HYDROLOGY 2023. — *Page Moth-Monitoring with LED-traps*. Site internet The SPRING project – Strengthening Pollinator Recovery through INDicators and monitorinG. Consulté le 5 juillet 2024. <https://www.ufz.de/spring-pollination/index.php?en=49562>
- HUDSON J., HORN S. & HANULA J.L. 2019. — Assessing the Efficiency of Pan Traps for Collecting Bees (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Entomological Science* 55 (3): 321–328. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-55.3.321>
- HUTCHINSON L.A., OLIVER T.H., BREEZE T.D., O'CONNOR R.S., POTTS S.G., ROBERTS S.P.M. & GARRATT M.P.D. 2021. — Inventorying and monitoring crop pollinating bees: Evaluating the effectiveness

of common sampling methods. *Insect Conservation and Diversity* 15 (3): 299–311.
<https://doi.org/10.1111/icad.12557>

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE 2024. — *Page d'accueil*. Site internet The International Union for Conservation of Nature Red List of Threatened Species ; version 2024-1. Consulté le 15 juillet 2024. <https://www.iucnredlist.org/>

KARLSSON D., HARTOP E., FORSHAGE M., JASCHHOF M. & RONQUIST F. 2020. — The Swedish Malaise Trap Project: A 15 Year Retrospective on a Countrywide Insect Inventory. *Biodiversity Data Journal* 8: e47255. <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e47255>

KIRK W.D.J. 1984. — Ecologically Selective Colored Traps. *Ecological Entomology* 9 (1): 35–41.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1984.tb00696.x>

KUHLMAN M.P., BURROWS S., MUMMEY D.L., RAMSEY P.W. & HAHN P.G. 2021. — Relative bee abundance varies by collection method and flowering richness: Implications for understanding patterns in bee community data. *Ecological Solutions and Evidence* 2021 (2:e12071).
<https://doi.org/10.1002/2688-8319.12071>

LACOEUILHE A., HÉRARD K., PONCET L. & TOUROULT J. (COORD.). 2024. — *Zoom sur l'ADN environnemental – Synthèse du document "Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres"*. PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD), Paris. 4 p.
<https://hal.science/hal-04561189>

LE BORGNE H. & BOUGET C. 2024. — La reconnaissance des espèces basée sur l'ADN : applications, perspectives et défis en milieu continental terrestre. *Naturae* 2024 (3).
<https://doi.org/10.5852/naturae2024a3>

LEVE M., BAUDRY E. & BESSA-GOMES C. 2019. — Domestic gardens as favorable pollinator habitats in impervious landscapes. *Science of The Total Environment* 647: 420–430.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.310>

LIU M., CLARKE L.J., BAKER S.C., JORDAN G.J. & BURRIDGE C.P. 2020. — A practical guide to DNA metabarcoding for entomological ecologists. *Ecological Entomology* 45 (3): 373–385.
<https://doi.org/10.1111/een.12831>

MAYER C. 2005. — Does Grazing Influence Bee Diversity? *African Biodiversity* 173–179.
https://doi.org/10.1007/0-387-24320-8_14

MINISTERE DE LA TRANSITION ECOLOGIQUE & MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION 2021. — *Plan national en faveur des insectes pollinisateurs et de la pollinisation 2021-2026*. 96 p.
https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/documents/2021.11.21_Plan_pollinisateurs.pdf

MINISTRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE & MINISTRE DE L'ECOLOGIE ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE 2007. — *Arrêté du 23 avril 2007 fixant les listes des insectes protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection*. <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000465500>

MNHN & OPIE 2024. — *Page d'accueil*. Site internet du SPIPOLL. Consulté le 15 juillet 2024.
<https://www.spipoll.org/>

O'CONNOR R.S., KUNIN W.E., GARRATT M.P.D., POTTS S.G., ROY H.E., ANDREWS C., JONES C.M., PEYTON J.M., SAVAGE J., HARVEY M.C., MORRIS R.K.A., ROBERTS S.P.M., WRIGHT I., VANBERGEN A.J. & CARVELL C. 2019. — Monitoring insect pollinators and flower visitation: The effectiveness and feasibility of different survey methods, in CARVALHEIRO L. (ed.). *Methods in Ecology and Evolution* 10 (12): 2129–2140. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13292>

POTTS S.G., BARTOMEUS I., BIESMEIJER K., BREEZE T., CASINO A., DAUBER J., DIEKER P., HOCHKIRCH A., HØYE T., ISAAC N., KLEIJN D., LAIKRE L., MANDELIK Y., MONTAGNA M., MONTERO CASTAÑO A., ÖCKINGER E., OTEMAN B., PARDO VALLE A., POLCE C., POVELLATO A., QUARANTA M., ROY D., SCHWEIGER O., SETTELE J., STÅHLS-MÄKELÄ G., TAMBORRA M., TROOST G., VAN DER WAL R., VUJIĆ A. & ZHANG J. 2024. — *Refined proposal for an EU Pollinator Monitoring Scheme*. Publications Office of the European Union, Luxembourg. European Commission & Joint Research Centre. 327 p. <https://data.europa.eu/doi/10.2760/2005545>

POTTS S.G., DAUBER J., HOCHKIRCH A., OTEMAN B., ROY D.B., AHRNÉ K., BIESMEIJER K., BREEZE T.D., CARVELL C., FERREIRA C., FITZPATRICK Ú., ISAAC N.J.B., KUUSSAARI M., LJUBOMIROV T., MAES J., NGO H., PARDO A., POLCE C., QUARANTA M., SETTELE J., SORG M., STEFANESCU C. & VUJIĆ A. 2021. — *Proposal for an European Union pollinator monitoring scheme*. Publications Office of the European Union, Luxembourg. European Commission & Joint Research Centre. 313 p. <https://doi.org/10.2760/881843>

PRENDERGAST K.S., MENZ M.H.M., DIXON K.W. & BATEMAN P.W. 2020. — The relative performance of sampling methods for native bees: an empirical test and review of the literature. *Ecosphere* 11 (5): e03076. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3076>

ROULSTON T.H., SMITH S.A. & BREWSTER A.L. 2007. — A Comparison of Pan Trap and Intensive Net Sampling Techniques for Documenting a Bee (Hymenoptera: Apiformes) Fauna. *Journal of the Kansas Entomological Society* 80 (2): 179–181. [https://doi.org/10.2317/0022-8567\(2007\)80\[179:ACOPTA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2317/0022-8567(2007)80[179:ACOPTA]2.0.CO;2)

SARTHOU J.-P. 2009. — Le piège cornet unidirectionnel, nouveau piège entomologique d'interception. *L'Entomologiste* 65 (2): 107–108. https://lentomologiste.fr/wp-content/uploads/2009-65/auteurs_2009-65/65.sarthou.pdf

SPRING CONSORTIUM 2022. — *SPRING Minimum Viable Scheme Pilot: Site Survey Guidance*. Version du 19 avril 2022. https://www.ufz.de/export/data/498/268546_SPRING%20MVS%20Pilot%20Survey%20guidance_incl_recodring-forms_April%202022.pdf

UNITED-KINGDOM CENTRE FOR ECOLOGY AND HYDROLOGY, BUMBLEBEE CONSERVATION TRUST, BUTTERFLY CONSERVATION, BRITISH TRUST FOR ORNITHOLOGY, HYMETTUS, UNIVERSITY OF READING, UNIVERSITY OF LEEDS & NATURAL HISTORY MUSEUM 2024. — *Page de présentation du FIT Counts*. Site internet du United-Kingdom Pollinator Monitoring Scheme. Consulté le 15 juillet 2024. <https://ukpoms.org.uk/fit-counts>

WESTPHAL C., BOMMARCO R., CARRÉ G., LAMBORN E., MORISON N., PETANIDOU T., POTTS S.G., ROBERTS S.P.M., SZENTGYÖRGYI H., TSCHULIN T., VAISSIÈRE B.E., WOYCIECHOWSKI M., BIESMEIJER J.C., KUNIN W.E., SETTELE J. & STEFFAN-DEWENTER I. 2008. — Measuring bee diversity in different european habitats and biogeographical regions. *Ecological Monographs* 78 (4): 653–671. <https://doi.org/10.1890/07-1292.1>

WILSON J.S., GRISWOLD T. & MESSINGER O.J. 2008. — Sampling Bee Communities (Hymenoptera: Apiformes) in a Desert Landscape: Are Pan Traps Sufficient? *Journal of the Kansas Entomological Society* 81 (3): 288–300. <https://doi.org/10.2317/JKES-802.06.1>

WÜHRL L., PYLATIUK C., GIERSCHE M., LAPP F., VON RINTELEN T., BALKE M., SCHMIDT S., CERRETTI P. & MEIER R. 2022. — DiversityScanner: Robotic handling of small invertebrates with machine learning methods. *Molecular Ecology Resources* 22 (4): 1626–1638. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13567>

6. ANNEXES

6.1. Annexe 1 : Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNe : ADN environnemental

CDDA : *Common Database on Designated Areas*

CITES : Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction

CNRS : Centre national de la recherche scientifique

Compteur BiOM : Compteur de la biodiversité Outre-mer

eBMS : *European Butterfly Monitoring Scheme*

EU PoMS : *European Union Pollinator Monitoring Scheme*

FAO : *Food and Agricultural Organization*

FIT Counts : *Flower-Insect Timed Counts*

GBIF : *Global Biodiversity Information Facility*

INPN : Inventaire national du patrimoine naturel

IRD : Institut de recherche pour le développement

LED : diode électroluminescente

MNHN : Muséum national d'Histoire naturelle

OFB : Office français de la biodiversité

ONB : Observatoire national de la biodiversité

Opie : Office pour les insectes et leur environnement

p. : pages

PCR : amplification en chaîne par polymérase

PNDB : Pôle national de données de biodiversité

SI CITES : Système d'information de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction

SIB : Système d'information sur la biodiversité

SINP : Système d'information de l'inventaire du patrimoine naturel

SPIPOLL : Suivi Photographique des Insectes POLLinisateurs

SPRING : *Strengthening pollinator recovery through indicators and monitoring*

STERF : Suivi temporel des rhopalocères de France

STING : *Science and Technology for Pollinating Insects*

UK PoMS : *United-Kingdom Pollinator Monitoring Scheme*

ZNIEFF : Zone naturelle d'intérêt écologique, faunistique et floristique

6.2. Annexe 2 : Glossaire

(Creer *et al.* 2016 ; Deiner *et al.* 2017 ; Liu *et al.* 2020 ; Le Borgne & Bouget 2024)

ADNe : ADN extrait d'échantillons environnementaux, tels que le sol, l'eau ou l'air, sans isolement préalable des organismes cibles.

Amplification par PCR : Utilisation de l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) pour créer de nombreuses copies d'un fragment d'ADN cible avec une enzyme polymérase. Le fragment est ciblé à l'aide d'une paire d'amorces (avant et arrière) qui se lient au fragment flanquant d'ADN d'intérêt.

Barcoding ADN : Identification taxonomique des espèces fondée sur la comparaison de la séquence d'un marqueur ADN obtenue pour un échantillon individuel aux séquences préexistantes dans les bibliothèques de séquences dites « de référence » pour des spécimens identifiés par des experts. Le *barcoding* est mis en œuvre par le séquençage d'un ou plusieurs marqueur(s) ADN caractérisés par une forte spécificité au sein d'une espèce et une grande variabilité entre les espèces. Des marqueurs ADN standards distincts ont été proposés pour les animaux, les champignons et les plantes.

Expert naturaliste : Spécialiste de l'identification et de l'écologie d'un ou plusieurs taxons, qui à la différence du taxonomiste, ne réalise pas forcément de publications systématiques pour décrire les taxons. Pour arriver à identifier les spécimens avec certitude, il peut s'appuyer sur des clés de détermination ou l'observation de spécimens de référence. L'expert naturaliste est aussi appelé para-taxonomiste.

Marqueur ADN : Tout gène ou fragment d'ADN ciblé dans le séquençage pour identifier une espèce, un individu ou un génotype.

Metabarcoding ADN : Méthode d'identification taxonomique de plusieurs espèces simultanément, en utilisant l'ADN extrait à partir d'un échantillon renfermant plusieurs individus ou à partir d'un échantillon environnemental. Le ou les marqueurs ciblés pour l'identification des espèces sont séquencés après amplification par PCR sur une plateforme de séquençage à haut débit.

Méthode : Une méthode peut être définie comme un processus logique visant à répondre à un objectif général (par exemple estimation d'une taille de population) par la collecte organisée de données. Une méthode mobilise donc une ou plusieurs techniques pour l'acquisition de données sur le terrain, et peut elle-même s'inscrire dans le cadre d'un protocole standardisé.

Morphogroupe : Groupe supra-spécifique d'organismes partageant des caractéristiques morphologiques (par exemple, les bourdons noirs à cul rouge, morphogroupe qui comprend plusieurs espèces).

Protocole : Il s'agit d'un plan d'étude détaillé expliquant comment les données doivent être collectées pour répondre à une question scientifique. Il comporte :

- un plan d'échantillonnage qui définit les règles de sélection des unités étudiées ;
- une ou plusieurs techniques et/ou méthodes à appliquer ;
- des règles complémentaires d'application (par exemple une durée, une fréquence ou des conditions météorologiques).

Un protocole est dit standardisé lorsqu'il est défini précisément dans un document de référence et applicable par différents opérateurs sur des territoires variés.

Séquençage à haut débit : Technique de séquençage permettant l'analyse simultanée de millions de fragments d'ADN.

Taxonomiste : Spécialiste de la classification des organismes vivants, dont la fonction consiste notamment à réaliser des publications systématiques pour décrire les taxons, à la différence de l'expert naturaliste. Le taxonomiste est souvent amené à produire des clés de détermination lors de la publication de description de nouvelles espèces ou lors de la révision de genres. Le taxonomiste est aussi appelé alpha-taxonomiste pour le différencier du para-taxonomiste.

Technique : Une technique désigne l'ensemble des savoir-faire, procédés et outils spécifiques, mobilisés de manière logique pour collecter des données associées à un paramètre à observer ou à

un facteur écologique à prendre en compte. Une technique est définie par rapport à une cible. Dans le cadre d'un protocole, elle doit être reproductible dans le temps et l'espace. Le filet à papillon est un exemple de technique fréquemment utilisé pour l'étude des insectes pollinisateurs.

6.3. Annexe 3 : Description des méthodes de collecte

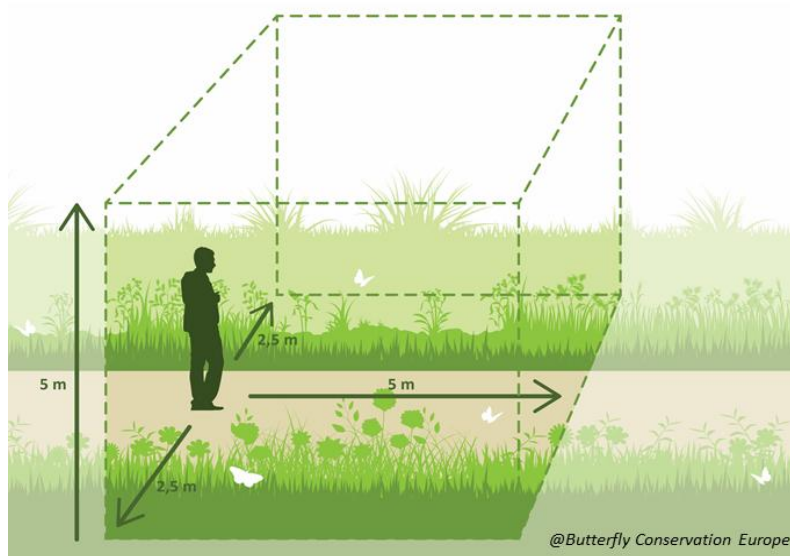
Programme de sciences participatives SPIPOLL

SPIPOLL est un programme français de sciences participatives fondé sur le recensement des interactions entre fleurs et pollinisateurs. Les participants prennent en photo tous les animaux différents (majoritairement des insectes) qui viennent visiter les fleurs d'une plante librement choisie sur une période de temps définie (20 minutes), et peuvent noter un indice d'abondance. Ils peuvent ensuite identifier chaque insecte photographié à une résolution taxonomique variable, de l'espèce au morphogroupe, grâce à un outil informatique d'aide à la détermination de 630 taxons terminaux. Il est à noter que le niveau de précision taxonomique de chaque observation est variable, allant du morphogroupe à l'espèce, car la plupart des insectes pollinisateurs rencontrés en France ne sont pas identifiables au niveau de l'espèce à partir de photographies. Les photographies de la plante et de ses insectes visiteurs sont chargées sur le site internet du projet, ainsi que la date et le lieu de l'échantillonnage permettant une disponibilité immédiate des données.

Transects pédestres

La réalisation de transects pédestres se fait généralement selon un protocole standardisé défini en amont par l'organisme/la structure qui conduit l'étude. Un observateur se déplace à vitesse constante le long d'un transect dont la longueur a été définie en amont. Il recensera alors l'ensemble des insectes présents (identification et comptage). Une largeur fixe sera mesurée de

chaque côté et en haut du transect afin de définir un “couloir” d’échantillonnage. Seuls les insectes présents dans ce couloir seront comptabilisés lors du passage (voir Figure 1).



Exemple de transects pouvant être défini. L’observateur comptabilise uniquement les insectes situés au maximum à 2,5 mètres de chaque côté du transect et à 5 mètres de hauteur.

Cet échantillonnage peut avoir lieu soit uniquement à vue (papillons de jour uniquement) soit avec l’aide d’un filet à papillon avec capture des individus. Dans ce dernier cas de figure, les individus capturés pourront être soit relâchés après identification soit mis dans un flacon avec un coton imbibé de quelques gouttes d’acétate d’éthyle pour une identification ultérieure.

Couppelles colorées

La méthode des coupelles colorées (Kirk 1984) est une méthode d’échantillonnage létale destinée à l’étude des insectes pollinisateurs dont l’utilisation est de plus en plus fréquente. Elle consiste en la mise en place de trois coupelles remplies d’eau dans lesquelles on ajoute

généralement un peu de savon afin de rompre la tension de surface. Ces coupelles sont placées à hauteur de végétation et sont habituellement de trois couleurs différentes (bleue, jaune et blanche) afin de représenter une large gamme des longueurs d'onde et de mimer celles arborées par les fleurs (voir Figure 2). Elles sont laissées ensuite sur site sur un laps de temps défini (allant généralement de 24 à 48 heures) avant collecte des échantillons. Cette méthode a été reconnue par la Food and Agricultural Organization (FAO) comme une méthode de collecte de données pertinente pour l'étude des communautés d'insectes pollinisateurs (LeBuhn *et al.* 2016).



Crédit photo : Arzhvaël Jeusset

Coupelles colorées installées sur un site d'échantillonnage

Pièges Malaise

Un piège Malaise, aussi appelé tente Malaise, est placé sur le terrain perpendiculairement à une route de vol des insectes (voir Figure 3). Une fois dans la tente, ceux-ci vont être conduits par un système de tunnel (goulot d'étranglement) à un récipient de collecte dans lequel est mis de l'alcool et qui est situé au niveau du point le plus haut de la tente.



Crédit photo : Jocelyn Claude

Exemple d'installation d'une tente Malaise

ADN environnemental de fleurs et *metabarcoding*

Cette méthode consiste à prélever les fleurs d'un ensemble de plantes puis à envoyer l'échantillon à un laboratoire pour *metabarcoding*. Les échantillons d'ADN ainsi prélevés seront amplifiés puis séquencés afin d'obtenir l'identification de l'ensemble des espèces ayant été en

contact avec le matériel prélevé. Avec cette méthode, les insectes ne sont donc pas prélevés, ce sont uniquement les fragments d'ADN qu'ils laissent sur les fleurs qui seront identifiés.

Seaux à LED à papillons de nuit

Cette méthode consiste en un seau équipé d'une lumière LED alimentée par une batterie (Butterfly Conservation Europe & Centre for Ecology and Hydrology 2024 ; Helmholtz Centre for Environmental Research & United-Kingdom Centre for Ecology and Hydrology 2023). Les seaux sont en plastique blanc, sont fermés et sont équipés avec un système de LED sur le dessus du couvercle et un entonnoir qui piège au fond du seau les insectes, dont notamment les papillons de nuit attirés par la lumière. Un détecteur de luminosité détecte quand l'ampoule LED doit être allumée, ce qui permet de pouvoir poser le piège à n'importe quel moment de la journée. Une fois la nuit passée, les observateurs viennent collecter les spécimens. Pour cela, ils ouvrent le piège puis prennent en photo un à un les individus capturés. Il peut être nécessaire d'ouvrir le piège sous une moustiquaire afin de ne pas laisser s'échapper les individus capturés, notamment si la relève du piège se fait tardivement le matin ou lors d'une journée chaude. Une fois photographiés, les données sont transférées sur une application de reconnaissance automatique qui permet leur identification.



Crédit photo : Jurriën van Deijk

Piège lumineux de type seau à LED pour la surveillance des papillons nocturnes utilisé dans le cadre du programme LED moth trap

6.4. Annexe 4 : Estimations de coûts annuels de mise en œuvre des différentes méthodes de suivi

Transects au filet à papillon et coupelles colorées

Fichier Excel à télécharger ici, en pièce jointe du présent rapport : <https://hal.science/hal-04929482>

Pièges Malaise

Si tri et *barcoding*

Nombre d'insectes récoltés sur une base de 2 000 individus par site et par semaine : 238 sites x 29 semaines (début avril à fin octobre) x 2 000 individus = 13 804 000 individus.

Capacité de tri journalière d'un technicien de laboratoire : Environ 285 individus, soit 3 plaques de 95 individus par jour, ce qui est réalisable par un technicien très efficace (Rodolphe Rougerie, communication personnelle, 6 mai 2024)

Coût d'une journée de travail : Environ 300 €

Coût annuel du technicien : $(13\,804\,000/285) \times 300 = 14\,530\,526$ euros.

Coût annuel du séquençage : $13\,804\,000 \times 2 \text{ €}$ (car très gros volumes à séquencer) = 27 608 000 euros

Total annuel : $14\,530\,526 + 27\,608\,000 = 42\,138\,526$ euros.

Si metabarcoding

Nombre de flacons : 238 sites x 29 semaines (début avril à fin octobre) = 6 902 flacons (en considérant qu'on change les flacons chaque semaine)

Coût du séquençage d'un flacon (en sous-traitance) : 34 euros

Coût annuel total du séquençage : $6902 \times 34 = 234\,668$ euros

6.5. Annexe 5 : Proposition d'une démarche statistique possible pour dimensionner un dispositif de suivi des pollinisateurs

Proposition rédigée par Philippe Aubry, ingénieur expert-biométricien, OFB :

Le suivi des pollinisateurs tel qu'envisagé concerne essentiellement deux paramètres, l'abondance et la richesse spécifique. Le suivi de l'abondance étant plus contraignant que le suivi de la richesse spécifique, il convient de dimensionner le dispositif par rapport à l'objectif de suivi de la tendance de l'abondance.

La détection d'une tendance temporelle d'abondance nécessite de disposer d'une chronique de valeurs d'abondances estimées à laquelle on applique un test de tendance (d'une nature à spécifier). Idéalement il vaudrait mieux estimer une taille d'effet associée à une mesure d'incertitude, mais en pratique il s'agit généralement de déterminer la p -value d'un test de tendance. La p -value d'un test peut être vue comme la probabilité d'obtenir le résultat observé sous l'hypothèse nulle d'absence de tendance. Si la p -value est très faible, cela signifie que le résultat observé est peu compatible avec l'hypothèse nulle.

Dans un test statistique, on distingue deux probabilités associées à deux risques d'erreurs :

- 1) la probabilité alpha, associée au risque de première espèce de conclure à la présence d'une tendance alors qu'il n'y en a pas ;
- 2) la probabilité bêta, associée au risque de seconde espèce de conclure à l'absence d'une tendance alors qu'il y en a une.

La puissance d'un test statistique est le complément à 1 de la probabilité bêta ; c'est donc la probabilité de détecter une tendance quand elle existe. Le dispositif de suivi doit donc être dimensionné de façon à garantir une puissance statistique suffisante (80 % et davantage) sous peine que l'objectif de détection de tendance ne puisse pas être atteint avec les moyens alloués, du moins à l'échelle spatiale requise.

Nous considérons que l'échantillonnage spatial des sites (par exemple, des mailles carrées de 1 kilomètre de côté) doit s'effectuer sur une base probabiliste, afin de caractériser le biais et la variance d'échantillonnage sans avoir à effectuer des suppositions quant à la nature de la distribution statistique des abondances, ou à son éventuelle structure spatiale (tendance et autocorrélation) ; on parle

d'inférence basée sur un dispositif (*design-based inference*) que l'on oppose à une inférence basée sur un modèle (*model-based inference*)¹.

On définit une *stratégie d'échantillonnage* comme le couple formé par un *dispositif d'échantillonnage probabiliste* et un *estimateur* (c'est-à-dire une formule qui permet d'estimer l'abondance totale à partir des données recueillies sur un échantillon de sites). Le dispositif d'échantillonnage probabiliste inclut des sites dans l'échantillon selon des probabilités connues. Il se distingue ainsi fondamentalement des approches non-probabilistes, qui peuvent être à l'origine de biais importants². C'est à partir de la connaissance des probabilités d'inclusion des sites dans l'échantillon que l'on peut définir un estimateur du total qui soit sans biais ainsi qu'un estimateur sans biais de sa variance d'échantillonnage (le biais est défini dans le cadre de la réplication de l'échantillonnage au sens du dispositif employé).

Dans le cadre d'une inférence basée sur un dispositif probabiliste, le dimensionnement d'un programme de suivi de l'abondance des pollinisateurs nécessite de spécifier :

- 1) un dispositif d'échantillonnage probabiliste (un exemple classique est l'échantillonnage aléatoire simple stratifié par des catégories d'habitats des pollinisateurs, avec une allocation proportionnelle de l'effort d'échantillonnage, mais des dispositifs plus complexes peuvent être envisagés³) ;
- 2) un estimateur du total ;
- 3) un estimateur de la variance d'échantillonnage de l'estimateur précédent ;
- 4) de données dans chaque strate afin de pouvoir rendre compte de la variabilité intra-strate de l'abondance ou, le cas échéant, de simuler des populations statistiques fictives.

Un suivi plurispécifique complique l'exercice puisqu'il faut parvenir à détecter une tendance avec une bonne puissance statistique pour différentes espèces à la fois. Le plus simple est de dimensionner le dispositif pour une espèce jugée essentielle, et pour laquelle on dispose de données. On peut aussi considérer un groupe d'espèces, en agrégeant les données pour ce groupe.

¹ Voir par exemple : Aubry, P., Francesiaz, C., 2022. On comparing design-based estimation versus model-based prediction to assess the abundance of biological populations. *Ecological Indicators* 144, 109394.

² Voir par exemple : Aubry, P., Francesiaz, C., Guillemain, M., 2024. On the impact of preferential sampling on ecological status and trend assessment. *Ecological Modelling* 492, 110707.

³ Voir par exemple : Aubry, P., Quintenne, G., Dupuy, J., Francesiaz, C., Guillemain, M., Caizergues, A., 2023. On using stratified two-stage sampling for large-scale multispecies surveys. *Ecological Informatics* 77, 102229.

L'étude de puissance consiste à simuler la variation de l'abondance au cours d'une certaine durée du programme de suivi (par exemple 10 ans). Il s'agit de contrôler la *taille de l'effet*, c'est-à-dire ici l'importance de la décroissance (ou de façon symétrique, de la croissance) de l'abondance au cours du temps. Pour une stratégie d'échantillonnage fixée, on peut faire varier l'*effort d'échantillonnage*, c'est-à-dire la taille de l'échantillon de sites que l'on peut suivre, mais également la valeur de la probabilité alpha, pour un test de tendance donné.

Le dispositif génère des échantillons de sites. Pour chaque échantillon, une estimation du total est effectuée, et la variance d'échantillonnage associée est également estimée. Un même échantillon peut être utilisé tous les ans, ou renouvelé chaque année (il existe également d'autres possibilités, où l'échantillon est divisé en une partie fixe et une partie variable, selon différentes modalités). On obtient donc une série temporelle fictive à laquelle on peut appliquer un certain test de tendance. Idéalement, le test de tendance doit tenir compte de la variance d'échantillonnage estimée. La p -value du test est calculée, et une décision est prise par rapport à une certaine valeur de la probabilité alpha (si la p -value est supérieure ou égale à alpha, on retiendra l'hypothèse nulle d'absence de tendance, et dans le cas contraire on conclura à la présence d'une tendance). Sachant qu'il existe réellement une tendance (lorsque la taille d'effet est supérieure à zéro), en répétant le processus d'estimation et de test de la tendance un grand nombre de fois, on en déduit la puissance statistique associée. Pour une taille d'effet nulle, on doit retrouver (au moins approximativement) la valeur du risque alpha.

L'exercice peut être répété pour différents efforts d'échantillonnage, différentes durées du programme de suivi, différentes stratégies d'échantillonnage, différentes espèces ou groupes d'espèces, etc. Ainsi, des enseignements peuvent être tirés pour dimensionner convenablement le programme de suivi compte tenu des objectifs fixés ou, inversement, pour déterminer quels objectifs peuvent être atteints pour un dimensionnement fixé (déterminé principalement par son coût de mise en œuvre).

RÉSUMÉ

Le protocole EU PoMS (European Union Pollinator Monitoring Scheme) a pour objectif d'évaluer la composition des communautés d'insectes pollinisateurs pour établir leurs tendances de population sur le long terme. Un protocole-pilote a été réalisé et, suite aux premiers résultats, les réflexions sur les méthodes d'échantillonnage à adopter continuent. Nous mettons en évidence que, contrairement à ce qui est pressenti, utiliser la méthode des coupelles colorées avec identification des spécimens par des experts pour échantillonner les pollinisateurs ne paraît pas réalisable à la vue des moyens humains et financiers engendrés (à minima plusieurs millions d'euros par an pour la France). Nous suggérons plutôt de combiner deux protocoles de sciences participatives existants (c'est-à-dire protocole SPIPOLL pour les insectes floricoles et protocole STERF/eBMS pour les papillons de jour) ainsi que de poser des pièges Malaise avec identification des spécimens par *metabarcoding*. Ces associations permettraient de disposer de tendances de population des insectes pollinisateurs, d'évaluer la richesse spécifique des communautés et d'impliquer le grand public, et ce, pour des moyens humains et financiers moindres. Nous attirons aussi l'attention sur le fait qu'aucune stratégie d'échantillonnage n'a été établie et que cette étape est cruciale à mettre en œuvre avant tout échantillonnage de terrain. Enfin, nous soulignons l'importance pour la France de réinvestir dans de nombreux domaines, notamment dans le recrutement et la formation de taxonomistes et d'experts naturalistes professionnels. Ce point est actuellement un facteur limitant et il est nécessaire d'y remédier afin de pouvoir faire face au déclin en cours du service de pollinisation.

Mots-clés : EU PoMS, analyse critique, insectes pollinisateurs, protocole d'échantillonnage.

Abstract

The EU PoMS (European Union Pollinator Monitoring Scheme) aims to evaluate the composition of pollinating insect communities to assess their long-term population trends. A pilot protocol was carried out and, following the first results, discussions on the sampling methods to adopt continue. We underline that using pan traps with identification of specimens by experts to sample pollinators does not seem feasible in terms of human and financial resources (a minima several million euros for France). We instead suggest combining two existing participatory science protocols (id est SPIPOLL protocol for insects requiring flowers and STERF/eBMS protocol for butterflies) and Malaise traps with identification of specimens by metabarcoding. These associations would make it possible to have pollinator population trends, to assess the specific richness of pollinator communities and to involve citizens, at lower financial costs. We also highlighted that no sampling strategy has been established while this step is crucial to define before any field campaign. Finally, we stress the urgent need for France to reinvest in many areas, particularly in the recruitment and training of professional taxonomists and naturalist experts. This point is currently a limiting factor and we have to remediate it to reverse the trend of declining pollinator population sizes.

Keywords : EU PoMS, critical analysis, pollinating insects, sampling protocols.

PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD)

Centre d'expertise et de données sur le patrimoine naturel

Jardin des Plantes

CP41 – 36 rue Geoffroy Saint-Hilaire

75005 Paris

www.patrinat.fr

